

CUANTIFICACION DE GLUCOSA EN LIQUIDOS BIOLOGICOS

ETAPA PREANALITICA

Edad: El neonato tiene valores menores y el Intervalo de referencia es más amplio, por la menor capacidad homeostática del hígado. RN a término: 60-120 mg%. RN prematuro: 50-130 mg%. **Valor Crítico:** 40 mg%

Estrés: Provoca aumentos variables según su intensidad. Un estrés severo puede llevar la glucemia a 300 mg%. La posibilidad de estrés debe ser investigada siempre, al momento de obtener la muestra.

Embarazo: A medida que avanza la gestación se tienen glucemias mas bajas, hasta un 20%. Intervalo de Referencia para 3er trimestre: 60-90 mg%.

Sexo: Los hombres tienen glucemias levemente mayores que las mujeres, la diferencia no es clínicamente importante por lo cual no se justifica trabajar con diferentes Intervalos de Referencia.

Ejercicio físico: El esfuerzo moderado puede bajar la glucemia un 2 a 6 % y, si es intenso y prolongado, hasta un 10 a 40 %. Al inicio de un ejercicio puede observarse una elevación de la glucemia, secundaria al estímulo de adrenalina sobre el hígado y la consecuente liberación de glucosa.

Ayuno prolongado: Se ven descensos variables, en general leves. Son mas intensos en neonatos, embarazadas, ancianos y en individuos con desnutrición. En individuos con insuficiencia hepática, con pocas horas de ayuno se produce hipoglucemia, cuanto mas severa es la insuficiencia mayor descenso de la glucemia. Algo similar se observa en neonatos prematuros.

Ingesta reciente: La ingesta reciente de hidratos de carbono eleva la glucemia, que se normaliza luego de 90 a 120 minutos. Los hidratos de carbono de absorción rápida provocan mayor elevación que los de absorción lenta. La Prueba de Sobrecarga Oral con Glucosa debe realizarse por la mañana con un ayuno de 8 a 10 hs, pues se ha demostrado diferente respuesta cuando se la realiza con otras condiciones de ayuno y hora.

Cambios de postura: No interfiere.

Muestra:

- **Tipo de muestra:** Sangre total, suero, plasma, orina, LCR, líquidos de cavidades serosas. La glucemia es levemente diferente según la muestra: sangre entera < suero < plasma. Además la glucemia de sangre venosa < muestra capilar < muestra arterial. La glucemia de sangre entera es 10 a 15 % < que de plasma por lo que **no pueden usarse indistintamente en seguimiento de internados**. La diferencia entre suero y plasma es mínima siempre que el suero se separe de las células en menos de 15 a 20 minutos de su obtención. El plasma tiene la ventaja de permitir la separación inmediata, post centrifugación. **Anticoagulantes:** Sirven heparina, EDTA y oxalato.
- **Conservación de la muestra:** El elevado consumo de glucosa por hematíes, leucocitos y plaquetas causa un rápido descenso de la glucemia. Con un Hto = 47% los hematíes a 37°C consumen 100 μmol glucosa/h/dl sangre y 7800 leucocitos/ mm^3 consumen 47 μmol /h/dl sangre. Normalmente, la glucemia del suero que estuvo sin separar a temperatura ambiente entre 30 y 120 minutos, da valores 5 a 22 % menores que el plasma con fluoruro (de la misma extracción). Este consumo se incrementa en casos de poliglobulia, leucocitosis y trombocitosis, provocando severos errores. Por lo tanto, si el plasma no será separado de inmediato, deben agregarse inhibidores de la glucólisis. Con este fin es eficaz la mezcla de fluoruro sódico + yodoacetato Na (ambos a 10 mg/ml de sangre). Para las orinas sirven ácido benzoico, ácido bórico (0,5%), tolueno, timol y azida Na (0,1%) + Cl de benciltonio (0,01%).

ETAPA ANALITICA

Métodos químicos: (menor costo, menor especificidad, útiles y válidos)

- Ortotoluidina
- Neocuproína
- Ferricianuro

Métodos enzimáticos: (más específicos, más caros, pueden tener interferencias de sustancias reductoras en la reacción con Peroxidasa (POD)).

- Hexoquinasa - G6PDH (método de referencia)
- Glucosa Deshidrogenasa
- **Glucosa Oxidasa - Peroxidasa + reacción de Trinder** (método de rutina)
- Glucosa Oxidasa (GOD) con otras reacciones indicadoras

INTERFERENCIAS

○ Interferencias endógenas

Hemólisis: no interfiere si es leve a moderada.

Lipemia y bilirrubinemia elevada: interfieren. Es necesario hacer un blanco de muestra: muestra + agua en lugar de reactivo, en igual volumen. La absorbancia del blanco de muestra debe restarse a la absorbancia obtenida al procesar la muestra.

○ Interferencias analíticas

Algunos fármacos son reductores, al competir con la aminofenazona (Trinder) frente al H_2O_2 causan una menor oxidación del cromógeno, por lo que se obtiene glucemia menor a la real. La magnitud de esta interferencia depende del nivel plasmático del fármaco al tomar la muestra y del poder reductor del mismo respecto al del cromógeno. Por ej., ácido ascórbico a niveles de 40 a 500 mg/L causa glucemias 2 a 36 mg% menores. Otros reductores de uso frecuente son: L-dopa, isoniácida, alfa metil dopa, paracetamol, tetraciclinas y tolazamida. Tener en cuenta que a veces el ácido ascórbico está como excipiente en muchos fármacos.

○ Interferencias farmacológicas

Fármacos hipoglucemiantes:

Hipoglucemiantes orales: sulfonilureas, glimidina, biguanidas.
Insulina exógena, corriente (rápida), NPH (intermedia) o lenta.
Propranolol, alcohol, inhibidores de la monoaminooxidasa, etc.

Fármacos hiperglucemiantes:

Hormonas: Glucagón, corticoides, somatotrofina y adrenalina.

Diuréticos: Tiazidas.

Hipotensores: Guanozán y alfametildopa.

Boncodilatadores: Salbutamol.

Nifedipina.

Cómo detectar si existe interferencia por alguno de los fármacos que está recibiendo el paciente?

Lo ideal es que el laboratorio disponga de un programa informático que permita conocer los fármacos interferentes para cada analito a dosar de manera que, al ingresar el pedido de análisis, se ingresen los fármacos que está recibiendo el paciente y el programa indique si existen interferencias y en qué analito; **luego el Bioquímico deberá definir la conducta a seguir en cada caso.** Veamos dos ejemplos:

a) Se obtiene interferencia por un fármaco que recibe el paciente en 2 analitos y ambos resultados no son urgentes. Se puede diferir la obtención de la muestra hasta que el paciente deje de recibir el medicamento y comunicarse con el médico solicitante para informarle esta situación.

b) El paciente ingiere tiazidas, las cuales elevan la glucemia. Ver la dosis recibida y el tiempo necesario para metabolizar la droga; pasado el mismo, obtener la muestra para dosar glucemia. Avisar al médico solicitante la causa de la demora.

ETAPA POSANALITICA

Intervalo de Referencia:

METODO / MUESTRA	Suero – Plasma
HK-G6PDH	80 – 100 mg/dl
GOD-POD	70 – 110 mg/dl

PRUEBA DE SOBRECARGA ORAL DE GLUCOSA (PSOG – PTOG)

En qué individuos se debe realizar?

- En aquellos que presentan factores de riesgo para desarrollar DM.
- En aquellos que presentan signos y/o síntomas que sugieren DM.
- En aquellos que tienen diagnóstico reciente de DM tipo 2 y se desea conocer el grado de insulinoresistencia hepática y periférica. Debe realizarse en cada muestra el dosaje de insulina y valorar su nivel respecto al de la glucemia en la misma muestra.

CONTRAINDICACIONES

No deberá estar cursando ningún cuadro agudo: síndrome febril, enfermedades infecciosas, enfermedades del aparato digestivo (vómitos, diarrea, Síndrome de Mala Absorción), traumatismo agudo, etc.

No deberá estar internado, inmovilizado o desnutrido.

INSTRUCTIVO PARA LA REALIZACION DE LA PRUEBA

Condiciones del paciente:

- Mantenga la dieta habitual, siempre que no sea pobre en hidratos de carbono. Es importante que la misma sea mayor a 150 g/día; es decir, su ingesta de harinas, pastas y dulces debe estar entre 300 y 400 g/día, de lo contrario debe consumir esas cantidades durante los 3 días previos a la prueba.
- No realice actividad física intensa ni reposo y evite bebidas alcohólicas en exceso desde 3 días previos a la prueba. Puede realizar su actividad física normal.
- Concurra al laboratorio a las 7.30 hs, con ayuno de 8 a 12 hs y dispuesto a permanecer de dos a tres horas tranquilo, sin fumar y evitando cualquier situación estresante (puede llevar un libro o revista).
- Se le realizará una extracción de sangre en ayunas y se dosará su glucemia. Si resulta mayor a 126 mg/dl se suspenderá la prueba y se comunicará el resultado a su médico.
- Si resultado inferior a 126 mg/dl, deberá ingerir en 5 minutos agua azucarada y a las 2 hs se le realizará otra extracción de sangre.
- Deberá responder un cuestionario escrito y entregarlo antes de la prueba. El mismo incluye información sobre la medicación actual y si se detecta interferencia analítica o farmacológica, se deberá postergar la prueba. No deberá estar recibiendo las siguientes drogas: corticoides, beta adrenérgicos ni estar comenzando con anticonceptivos orales. Deberá evitar durante las 12 hs previas: gastrocinéticos (Mosapride, Metoclopramida, Domperidona); antidepresivos con efecto anticolinérgico (Olanzapina); benzodiazepinas (Diazepam, Bromazepam, Clonazepam); anticolinérgicos.

Se debe realizar la PSOG por la mañana para evitar las variaciones diurnas de la glucemia por el ritmo circadiano de secreción de insulina.

Solución acuosa de glucosa

+ En adultos: 75 g de glucosa anhidra en 375 ml de agua (20%), a temperatura ambiente, puede acidularse con jugo de limón natural si es necesario.

+ En menores de 12 años o peso < 30 kg: solución al 20% con 1,75 g de glucosa por kg de peso.

Procedimiento

- Reposo del paciente por 5 minutos.
- Realizar una extracción de sangre por punción venosa en ayunas (usar heparina o EDTA).
- Separar el plasma dentro de los 15 minutos y dosar glucemia.
- Administrar la solución de glucosa. Controlar que ingiera la solución en 5 minutos. Registrar el tiempo en que inicia la ingesta. Si presenta náuseas o vómitos suspender la prueba.
- Controlar que el paciente permanezca sentado en el laboratorio durante 2 hs, sin fumar, comer ni beber.
- Realizar una nueva extracción de sangre por punción venosa exactamente a las 2 hs de iniciada la ingestión de glucosa y dosar glucemia.

Si se sospecha que el paciente puede tener problemas de absorción de glucosa, realizar una extracción de sangre a los 60 minutos para verificar una elevación de la glucemia, la cual debe producirse para estimular la secreción de insulina. Si no se observa esta elevación, deben investigarse causas de malabsorción de glucosa y repetir la prueba cuanto esta situación no esté presente.