



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

MANUAL DE PRÁCTICAS

BIOQUÍMICA CLÍNICA

(CLAVE 1807)



MÉXICO, D. F.

2009

El Laboratorio Clínico es un ambiente dinámico que está continuamente cambiando para satisfacer las necesidades de salud pública. El presente manual será de utilidad como recurso informativo y técnico en la formación de los alumnos que cursan la asignatura BIOQUÍMICA CLÍNICA (1807) de la carrera de QFB. El aspecto valioso de la información es que tiene un enfoque actual de los procesos habituales de laboratorio, como la tendencia tecnológica de la automatización, lo que permite enfrentar el reto de manejar pruebas sensibles, específicas y efectivas en el monitoreo de la salud y la enfermedad. Además, da la posibilidad de obtener resultados confiables a tiempo. El laboratorio 301 de la Facultad de Química cuya principal función es la de la enseñanza práctica, también es un centro de trabajo en el que la salud laboral de la población universitaria; es decir profesores, alumnos, trabajadores y técnicos pudiera verse afectada por lo que se debe tener en cuenta que la población universitaria se encuentra sometida a multiplicidad de **factores de riesgo** de diversa índole, y es la razón por la que se creó el Manual de Procedimientos de Higiene y Seguridad para el laboratorio 301 de bioquímica clínica de la facultad elaborado por QFB Erika García Romero en el año 2015 así como el manual de Manejo de Procedimientos de manejo de Residuos Biológico infecciosos RPBI, para dar cumplimiento a las normatividad vigente NOM 007 SSA3-2011 ORGANIZACIÓN Y FUNCIONAMIENTO DEL LABORATORIO CLÍNICO.

En éste manual encontrarán las acciones a seguir para la identificación y recolección de almacenamiento y transporte interno de los desechos tóxico y de los desechos biológicos RPBI, así como el procedimiento de acciones a seguir sobre lo que concierne a Higiene y Seguridad, también se cuenta con el reglamento interno del Departamento de Bioquímica y el reglamento de nuestra Facultad.

La elaboración de éste manual fue realizado en colaboración Q.F.B. Marisol Hernández Salas ,Q.F.B, Adriana Olivia Pastrana Arroyo , QFB Rosalinda Velázquez Salgado y con el apoyo de Paulina Almaguer Franco alumna de servicio social.

CONTENIDO

PRÓLOGO

UNIDAD I- DISEÑO, MANEJO Y CONTROL EN UN LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICO

- 1.1 Introducción
- 1.2 Objetivos
- 1.3 Reglamentos de la Facultad de Química
 - 1.3.1 Reglamento de la Facultad de Química y del Departamento de Bioquímica
- 1.4 NORMAS OFICIALES MEXICANAS
 - 1.4.1 NOM 007-SSA3-2011 Organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos

Proy de NOM 007-SSA3-2017 Organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos

1.4.2 NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002, Protección ambiental– Salud ambiental– Residuos Peligrosos Biológico-Infeciosos– Clasificación y especificaciones de manejo

1.4.3 NOM-018–STPS-2015- Sistema armonizado para la identificación y comunicación de peligros y riesgos por sustancias químicas peligrosas en los centros de trabajo

1.4.4 PROY-NOM-005-STPS-2017, Manejo de sustancias químicas peligrosas o sus mezclas en los centros de trabajo-condiciones y procedimientos de seguridad y salud.

1.5 NORMAS MEXICANAS

1.5.1 NMX-EC-15189-IMNC-2015, Laboratorios clínicos-requisitos de la calidad y competencia / ISO 15189-2012 "Medical laboratories Requirements for quality and competence "

1.5.2 NMX-EC-17025-IMNC-2006. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración

1.5.3 NMX –EC-9001-IMNC-2015 Requisitos para el sistema de gestión de calidad ISO 9000:2005, Quality management systems-Fundamentals and vocabulary

1.5.4 ISO 9001:2015, Quality management systems-Requirements

1.5.5 ISO 9004:2009 Gestión para el éxito sostenido de una organización — Enfoque de gestión de la calidad

1.6) Cuestionario

UNIDAD II- CONTROL DE CALIDAD EN EL LABORATORIO CLÍNICO- ETAPAS DE CONTROL DE CALIDAD

2.1 Introducción

2.2 Etapa pre-analítica

2.2.1 Flebotomía Toma de muestra venosa, capilar y arterial además de otros líquidos biológicos

2.2.2 Cuestionario

2.3 Etapa analítica

2.3.1 Práctica "Estudio de la Variación en Condiciones de Rutina. (VCR) por la determinación analítica en una muestra control (normal o anormal) de proteínas y/o albúmina por el método colorimétrico

2.3.2 Cálculos, media de coeficiente de Variación, elaboración y discusión de gráficas de Levey Jenning

2.3.3 Autoanalizadores utilizados en Química Clínica y Discusión de gráficas

2.4 Etapa post-analítica

2.5 Cuestionario

UNIDAD III- PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO RENAL

3.1 Introducción

3.1.1 Determinación de ácido úrico. Método enzimático-colorimétrico

3.1.2 Determinación de urea. Método Cinético-UV

3.1.3 Determinación de creatinina. Método colorimétrico-cinético

3.2. Examen General de Orina (EGO) cuallitativo

3.3 Cuestionario

UNIDAD IV- EQUILIBRIO HIDROELÉCTRICO Y GASES EN SANGRE

4.1 Introducción

4.1.1 Determinación de sodio. Método enzimático-colorimétrico

4.1.2 Determinación de potasio. Método UV

- 4.1.3 Determinación de cloruro. Método colorimétrico
- 4.1.4 Determinación de sodio, potasio y cloruro.
- 4.2 Gasometría Equipo point of care
- 4.3 Cuestionario

UNIDAD V-METABOLISMO ÓSEO Y MINERAL

- 5. Introducción
- 5.1 Determinación de calcio. Método colorimétrico
- 5.2 Determinación de fósforo. Método UV
- 5.3 Determinación de magnesio. Método colorimétrico

UNIDAD VI- METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS Y LÍPIDOS

- 6.1 Introducción
- 6.2 NOM 015-SSA2-2010 Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus
- 6.3 NOM -037-SSA2-2012, para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias
- 6.4 Determinación de glucosa. Método enzimático colorimétrico- TRINDER
- 6.5 Determinación de colesterol total. Método enzimático colorimétrico- TRINDER
- 6.6 Determinación de triglicéridos. Método enzimático colorimétrico- TRINDER
- 6.7 Cuestionario

UNIDAD VII- PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO HEPÁTICO

- 7.1 Introducción
- 7.1.1 Determinación de bilirrubina total y directa. Método colorimétrico
- 7.1.2 Determinación de albúmina. Método colorimétrico
- 7.1.3 Determinación de proteínas totales Método colorimétrico
- 7.2 Introducción a la enzimología clínica
- 7.2.1 Determinación de fosfatasa alcalina (FAL/ALP). Método cinético
- 7.2.2 Determinación de gamma glutamiltransferasa (γ -GT/ GGT). Método cinético
- 7.2.3) Determinación de aspartato aminotransferasa (GOT/AST). Método Cinético-UV

UNIDAD VIII-PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO CARDÍACO

- 8.1 Introducción
- 8.2 Determinación de alanino aminotransferasa (GPT/ALT). Método Cinético-UV
- 8.3 Determinación de creatin cinasa (CK)
- 8.4 Determinación de lactato deshidrogenasa (LDH). Método Cinético-UV
- 8.5 Cuestionario

UNIDAD XI- PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO PANCREATICO

- 9.1 Introducción
- 9.2 Determinación de lipasa (LPS)
- 9.3 Determinación de alfa-amilsa (AMY)

XII. TEMAS SELECTOS: CASO CLINICO

ANEXOS

Anexo 1. Tabla de disposición de residuos

Anexo 2. Cuadro de seguridad para los desechos de los residuos

GLOSARIO

BIBLIOGRAFÍA

PRÓLOGO

La Bioquímica Clínica es un campo multidisciplinario cuya finalidad es la aplicación de la Ciencia Química para contribuir a la resolución de problemas de salud. La función de la asignatura de Bioquímica Clínica (clave 1807) es realizar análisis, tanto cualitativos como cuantitativos, en fluidos corporales como sangre y sus derivados u orina.

Para que los resultados de dichos análisis sean útiles a los médicos y sirvan de apoyo al diagnóstico, tratamiento y seguimiento de una enfermedad, éstos deberán realizarse bajo un estricto control de calidad logrando niveles óptimos de precisión y exactitud, características deseables en cualquier resultado de diagnóstico.

Los objetivos generales del curso son:

1. Que el alumno conozca la Norma Obligatoria Mexicana para la Organización y Funcionamiento del laboratorio Clínico, así como una serie de normas relacionadas con el laboratorio.
2. Que el alumno sea capaz de realizar el análisis de productos biológicos desde una adecuada manipulación de los especímenes, la toma y/o recepción de muestras hasta la entrega de resultados.
3. Que el alumno realice los procedimientos de las diferentes metodologías en forma manual y adquiera los conocimientos necesarios para el manejo de equipo semiautomatizado .
4. Que el alumno adquiera los elementos formativos que le permitan desarrollar una actitud y pensamientos críticos, de independencia en el trabajo. Este proceso de enseñanza incluye: planeación, selección, elaboración y ejecución analítica, evaluación y resolución de problemas con la metodología empleada, aplicación e interpretación de programas de control de calidad, interpretación de gráficas y

correlación de los datos obtenidos con las alteraciones que se presentan en el organismo en los diferentes cuadros patológicos.

Los desechos tóxicos que se generan en cada sesión de práctica los alumnos los identifican separan y envasan en recipientes previamente etiquetados con el nombre del residuo o nombre de la práctica, y serán almacenados en el área específica por la laboratorista hasta que se indique el día y hora de acuerdo al calendario proporcionado por la persona responsable de la gestión ambiental del departamento de bioquímica, para su recolección.

Los residuos biológico infecciosos (RPBI) como Punzo-cortantes, algodón con sangre, etc. se identifican recolectan y almacenan temporalmente en los contenedores rígidos y bolsas de color rojo dependiendo del desecho con el emblema RPBI's , bolsas recomendadas por la NOM 087-SEMARNAT-2002 y son trasladados los días miércoles por la laboratorista al área de microbiología en donde está la persona responsable del programa de desechos biológicos para su transporte externo por la empresa autorizada para realizar el tratamiento y disposición final de los desechos RPBI .

Por lo que es recomendable iniciar el curso conociendo los reglamentos de Higiene y Seguridad que marca la Facultad de Química, y el Departamento de Bioquímica.

UNIDAD I

DISEÑO, MANEJO Y CONTROL EN UN LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICO

1.1 INTRODUCCIÓN

Para entender mejor los principios básicos de la bioquímica clínica es indispensable la experimentación. El laboratorio clínico es el lugar donde se comprueba la validez de dichos principios; ofrece también la oportunidad de conocer los procedimientos que ocurren en el laboratorio clínico ya sea privado o público. Sin embargo, para conseguir dicho objetivo, es imprescindible realizar análisis químicos confiables, y esto sólo puede lograrse, si se conoce el manejo adecuado del equipo y de los reactivos químicos que existen en el laboratorio.

Por otro lado, un aspecto fundamental que se debe considerar en el Laboratorio es la seguridad, pues el trabajo en dicho lugar implica que la persona que lleva al cabo la experimentación se exponga al manejo de muestras biológicas de pacientes y que se consideran potencialmente infecciosas, y a una gran variedad de sustancias químicas, muchas de las cuales se deben de conocer los riesgos durante su manipulación. Por lo anterior, es indispensable tener un reglamento de higiene y seguridad con el fin de reducir riesgos en el manejo del material, equipo y sustancias químicas.

Al trabajar con reactivos químicos, es necesario conocer las propiedades de las sustancias empleadas y las precauciones que deben observarse durante su manipulación. Debido a lo anterior, es necesario saber qué tipo de información puede y debe brindar la etiqueta de cualquier sustancia química o las hojas de dato de datos de seguridad proporcionadas por las casas comerciales de los kits que se manejan

1.2 OBJETIVOS

El alumno:

1. Conocerá las reglas básicas de higiene y seguridad que se deben aplicar en la asignatura práctica en el laboratorio de bioquímica clínica
2. Analizará la importancia que tiene cada una de estas reglas, tanto en las actividades académicas de aprendizaje, como en el ejercicio profesional
3. Se enterará de las precauciones que hay que considerar al manejar los reactivos y desechos tóxico
4. Identificará algunas de las sustancias químicas o kits de reactivos clínicos empleadas en el curso , sus usos y precauciones

1.3 REGLAMENTOS DE LA FACULTAD DE QUÍMICA

Disponible en: <https://quimica.unam.mx/proteccion-civil-facultad-quimica/reglamento-higiene-seguridad-laboratorios-la-facultad-quimica/>

1.3.1 REGLAMENTO DEL DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA

Disponible en: <https://quimica.unam.mx/wp-content/uploads/2016/02/RIHyS-BQ-Final.pdf>

1.4 NORMAS OFICIALES MEXICANAS

Las normas oficiales mexicanas son las regulaciones técnicas de observancia obligatoria expedidas por las dependencias competentes, conforme a las finalidades establecidas en el artículo 40 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, que establecen las reglas, especificaciones, atributos, directrices, características o prescripciones aplicables a un producto, proceso, instalación, sistemas, actividad, servicio o método de producción u operación, así como aquellas relativas a terminología, simbología, embalaje, mercado o etiquetado y las que se refieran a su cumplimiento o aplicación.

1.4.1 NOM 007-SSA3-2011 ORGANIZACIÓN Y FUNCIONAMIENTO DE LOS LABORATORIOS CLÍNICOS

Disponible en http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5240925& fecha=27/03/2012

1.4.2 NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002, PROTECCIÓN AMBIENTAL– SALUD AMBIENTAL–RESIDUOS PELIGROSOS BIOLÓGICO-INFECCIOSOS– CLASIFICACIÓN Y ESPECIFICACIONES DE MANEJO

Disponible en http://www.inb.unam.mx/stecnica/nom087_semarnat.pdf

1.4.3 NOM-018–STPS-2015- SISTEMA ARMONIZADO PARA LA IDENTIFICACIÓN Y COMUNICACIÓN DE PELIGROS Y RIESGOS POR SUSTANCIAS QUÍMICAS PELIGROSAS EN LOS CENTROS DE TRABAJO

Disponible en <http://www.economia-noms.gob.mx/normas/noms/2010/018stps2015.pdf>

1.4.4 PROY-NOM-005-STPS-2017, MANEJO DE SUSTANCIAS QUÍMICAS PELIGROSAS O SUS MEZCLAS EN LOS CENTROS DE TRABAJO-CONDICIONES Y PROCEDIMIENTOS DE SEGURIDAD Y SALUD.

Disponible en http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5487743&fecha=22/06/2017

1.5 NORMAS MEXICANAS

Las Normas Mexicanas (NMX) son documentos técnicos que permiten establecer especificaciones de calidad sobre procesos, productos, servicios, sistemas, métodos de prueba, competencias, etc., además de coadyuvar en la orientación del consumidor. No son de carácter obligatorio.

1.5.1 NMX-EC-15189-IMNC-2015, LABORATORIOS CLÍNICOS-REQUISITOS DE LA CALIDAD Y COMPETENCIA / ISO 15189-2012"MEDICAL LABORATORIES REQUIREMENTS FOR QUALITY AND COMPETENCE

Disponible en http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5393609&fecha=26/05/2015

1.5.2 NMX-EC-17025-IMNC-2006. REQUISITOS GENERALES PARA LA COMPETENCIA DE LOS LABORATORIOS DE ENSAYO Y DE CALIBRACIÓN

Disponible en http://200.57.73.228:75/pqtinformativo/GENERAL/Carpeta_2_Criterios_evaluacion/MP-FE005_Criterios_de_aplicacion_NMX-EC-17025-IMNC-2006_2.pdf

1.5.3 NMX –EC-9001-IMNC-2015 REQUISITOS PARA EL SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD e ISO 9000:2005, QUALITY MANAGEMENT SYSTEMS-FUNDAMENTALS AND VOCABULARY

Disponible en http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5430250&fecha=17/03/2016

1.5.4 ISO 9001:2008, QUALITY MANAGEMENT SYSTEMS-REQUIREMENTS

1.5.5 ISO 9004:2009 GESTIÓN PARA EL ÉXITO SOSTENIDO DE UNA ORGANIZACIÓN — ENFOQUE DE GESTIÓN DE LA CALIDAD

1.6 CUESTIONARIO

1. ¿Cuáles son las Normas Aplicables al Laboratorio Clínico?
2. ¿Cuáles son las Normas Aplicables a Gestión de Calidad?
3. ¿Norma Oficial Mexicana de Protección Ambiental y Norma Mexicana de Gestión ambiental

4. ¿Norma Internacional Aplicable a los Laboratorios Clínicos?
5. ¿Norma que da requisitos para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración?
6. ¿A qué se le llama Certificación?
7. ¿A qué se le llama Acreditación?
8. ¿Medidas de seguridad que deben observarse en el laboratorio Clínico?

UNIDAD II

CONTROL DE CALIDAD EN EL LABORATORIO CLÍNICO-ETAPAS DE CONTROL DE CALIDAD

2.1 INTRODUCCIÓN

El laboratorio clínico es un servicio médico indispensable, cuya importancia ha ido creciendo y desarrollándose a lo largo de los años hasta ocupar un lugar central en la medicina. La meta fundamental del Químico Clínicos es proporcionar datos confiables acerca de la composición de muestras obtenidas de pacientes, de tal forma que puedan contribuir al diagnóstico, tratamiento y seguimiento de diversas enfermedades.

La obtención de datos verdaderamente confiables, requiere de la rigurosa aplicación de diferentes técnicas de control de calidad, teniendo siempre presente que el mejor sistema de control es el que permite prevenir, identificar y corregir los errores, pero cuando no se dedica la atención suficiente a la calidad, se pueden presentar deficiencias serias.¹

Para concretar este propósito es necesario la utilización de procedimientos y programas de control de calidad interno y externo entre otros elementos. La meta de un sistema de control de calidad deberá ser que: "La variación en las determinaciones que se llevan a cabo en el laboratorio sea lo suficientemente pequeña para que no se afecte la utilidad diagnóstica".¹

La realización de cualquier procedimiento analítico puede estar amenazada por cometer un sin número de errores, algunos de los cuales pueden llegar a tener consecuencias realmente serias. Actualmente, frente a la demanda creciente de los usuarios del laboratorio clínico (médicos y pacientes) y como resultado del avance científico y tecnológico, se requiere controlar la operación total, incluyendo las etapas pre-analítica, analítica y post-analítica⁵ y que por ahora también se habla de la importancias desde la pre-preanalítica y post-postanalítica

2.2 ETAPA PRE-ANALÍTICA

Las pruebas de laboratorio que miden un compuesto analizado en un espécimen de sangre u otro fluido corporal, son solicitadas por los médicos para evaluar el estado del paciente. Se asume que el resultado analítico obtenido es representativo de la concentración real del compuesto analizado en el paciente. Desafortunadamente, hay numerosos factores que pueden invalidar ésta suposición. Un número de errores no analíticos pueden también cambiar la concentración de uno o más compuestos analizados en un espécimen de tal forma que los resultados no reflejan la condición fisiológica del

individuo. Es responsabilidad de los Químicos tomar medidas que minimicen las fuentes de error, desarrollando procedimientos estandarizados referidos a la preparación del paciente, la recolección de la muestra, los métodos de transporte y la preservación de la misma.⁶

De la misma forma en que al controlar la temperatura, la longitud de onda, y tiempo de incubación se limitará el error analítico, el error pre-analítico también puede ser controlado

1. Causas de Variación Previas a la Recolección

A) Variables del ciclo biológico: Se refiere a los cambios en la concentración de los compuestos analizados, que ocurre de forma predecible a ciertas horas del día, semana o mes. El estudio de estos cambios cíclicos es llamado "cronobiología". La variación rítmica es típica de muchas funciones biológicas; la variación diurna en el metabolismo de drogas y la incidencia de infarto al miocardio son dos ejemplos de la importancia de este campo. La variación cíclica más reproducible es la circadiana, la cual ocurre durante el transcurso de un solo día; la variación durante un período de tiempo mayor que un día (infradiana), también puede afectar los resultados en las pruebas de laboratorio. La variación circanual, la cual ha sido reportada en algunas sustancias, está relacionada con cambios en la dieta debido a la estación, o con la variación del clima.

- Pruebas Sujetas a Variación Diurna: Fosfatasa ácida*, ACTH, Catecolaminas, Cortisol (y otros esteroides adrenales), Gastrina*, Hormona del Crecimiento*, Tolerancia a la Glucosa, Hierro, Osteocalcina*, Hormona Paratiroidea*, Prolactina*, Renina/aldosterona y TSH*

*Más altas en pasado meridiano (P.M.) y las otras, más altas en (A.M.)

- Pruebas Afectadas por la Ingestión de Alimentos⁶: Cloro**, Gastrina, Glucagón, Glucosa, Hormona del Crecimiento, Insulina, Calcio Ionizado, Fosfato**, Potasio**, Triglicéridos y pH en Orina.

**Más bajo después de los alimentos; todos los demás, más altos.

B) Variables físicas relacionadas con el paciente: El ejercicio físico es una causa común controlable de variación en los resultados de las pruebas de laboratorio. Dentro de las pruebas químicas de rutina se ha observado que: el potasio, el fósforo, la creatinina y las proteínas séricas son significativamente alterados por un período breve de ejercicio. Con el ejercicio regular, hay un aumento en las enzimas relacionadas con la actividad muscular y un aumento en la concentración de ácido úrico en sangre. El ejercicio intenso, como correr en un maratón, produce una rápida elevación en la concentración del potasio, ácido úrico, bilirrubina y enzimas musculares, mientras que la concentración de glucosa y fósforo disminuyen significativamente. En personas sometidas a entrenamiento para competencias de distancias largas, las concentraciones de gonadotropina y esteroides sexuales están marcadamente disminuidas, mientras que la concentración de prolactina está aumentada.

La postura es una causa de variación pre-analítica fácilmente controlable. En la posición de pie, se observa que un incremento en la presión hidrostática causa pérdida de agua y electrolitos procedentes del compartimiento del líquido intravascular, lo que a su vez da como resultando un aumento en la concentración de proteínas.¹

- Procedimientos para minimizar las variables en el paciente

a) Variables biológicas cíclicas: El laboratorio deberá determinar cuáles de las pruebas realizadas tienen cambios significativos de concentración, ya sean cíclicos o relacionados con la ingesta de alimento. En condiciones óptimas, los especímenes para estas pruebas deberán ser colectados tan pronto como el paciente despierte y que esté todavía en

ayunas. Si hay un patrón de variación ultradiana, como lo hay para la mayoría de las hormonas pituitarias, se deberán coleccionar varios especímenes a intervalos mayores del ciclo usual, para proveer una noción exacta sobre la producción de hormonas.

b) Variables físicas: Si se están coleccionando muestras para medir compuestos que son afectados por el ejercicio, es necesario interrogar al paciente para saber si ha realizado ejercicios vigorosos en las últimas 24 a 48 horas. Cualquier historia de ejercicio vigoroso deberá ser anotada en la forma de requisición e incluirse en el reporte final. Otra alternativa será pedirle al paciente que regrese después para la toma de esa muestra. Antes de la toma de muestra el estado de estrés es difícil de controlar; sin embargo, los médicos deberán estar informados sobre aquellas pruebas que pueden estar afectadas, así como de la magnitud del cambio inducido por el estrés, ya sea físico o mental. Hay casos donde resulta recomendable que el laboratorio solicite asesoría especial antes de llevar a cabo pruebas que son severamente afectadas por el estrés del paciente, tales como las pruebas de función adrenal o pituitaria, metabolitos de catecolaminas, análisis de lípidos y prueba de tolerancia a la glucosa.

Los efectos provocados por la postura pueden minimizarse pidiendo a los pacientes ambulatorios, que permanezcan sentados por lo menos 15 minutos antes de la extracción de la sangre.

Para los análisis que sufren alteraciones por la dieta, incluyendo las mediciones de tolerancia a la glucosa, hidroxiprolina, 5-HIAA y los metabolitos de las catecolaminas urinarias, es recomendable proveer al paciente con las indicaciones por escrito, antes de ser programado para la colecta de la muestra.

Si pruebas tales como la medición de renina y aldosterona, tolerancia a la glucosa, orina de 24 horas, grasa en heces de 72 horas, requieren de una preparación especial del paciente, resulta buena práctica citar antes al paciente para entregarle una explicación detallada en una hoja impresa.⁶

2. Causas de Variación en la Recolección de Sangre

A) Técnicas para la recolección de sangre: El uso incorrecto de los procedimientos para obtener especímenes puede inducir errores significativos en los resultados finales de las pruebas de laboratorio; los errores relacionados con la colecta de muestras en el laboratorio son las causas más comunes de resultados erróneos.

En hospitales de enseñanza, la flebotomía es llevada a cabo por una variedad de individuos (enfermeras, asistentes de médicos y estudiantes) quienes tienen un entrenamiento formal limitado o incluso carecen de él, en técnicas de flebotomía. En la mayoría de los laboratorios, los especímenes son coleccionados usando tubos al vacío y agujas especialmente diseñadas, que simultáneamente permiten la punción de la vena y del tapón del tubo. Los tubos para colecta son hechos de vidrio, plástico los cuales estos últimos son usados con más frecuencia; ambos son apropiados para la mayoría de las pruebas. Muchos tubos están cubiertos con silicón, el cual reduce la adhesión del coágulo, permitiendo mejor separación del suero y de las células. Los tapones están típicamente hechos de hule.

En niños y adultos con difícil acceso venoso, puede hacerse una punción capilar para la obtención de la muestra (ciertos micro-tubos especiales, que contienen anticoagulantes pueden llenarse por capilaridad). La contaminación de la muestra con fluidos de tejido es una causa potencial de preocupación en todos los procedimientos de colección capilar de sangre, ya que el fluido tisular virtualmente no contiene proteínas y, por lo tanto, no tiene compuestos analizados unidos a proteínas. Este tipo de contaminación puede ser minimizado usando solo la sangre que fluye libremente del sitio de punción.⁶

B) Tipos de muestras de sangre: Las diferencias que existen entre sangre arterial, venosa y capilar, son causas ocasionales de resultados erróneos. La sangre arterial es la fuente de nutrientes para todos los tejidos del cuerpo y es la mejor muestra para el análisis de la distribución de sustancias necesarias para los tejidos corporales como el oxígeno. La sangre venosa difiere de la sangre arterial en que tiene menores concentraciones de sustancias usadas en el metabolismo, tales como oxígeno y glucosa, y más altas concentraciones de productos de desecho tales como: ácidos orgánicos, amoníaco y dióxido de carbono.

Si sitios específicos, como el pie, se mantienen tibios, se pueden obtener muestras de sangre capilar que son muy parecidas a las de sangre arterial. En estados de poca perfusión tisular y en los neonatos, sin embargo, hay una diferencia significativa entre la presión parcial de oxígeno (PO_2) de la sangre capilar y la arterial.⁶

C) Errores relacionados con preservativos y anticoagulantes: Los preservativos y anticoagulantes son ampliamente usados para coleccionar muestras de sangre, orina y otros fluidos corporales. Cuando se extrae sangre del cuerpo y se deja coagular, ésta se separa en una fase líquida llamada suero y en un coágulo sólido conteniendo células sanguíneas y fibrina; si se añade un anticoagulante como la heparina, la fase líquida es llamada plasma. El suero y el plasma son similares en muchos aspectos, pero difieren en que el plasma carece de fibrina, disminuyendo el total de proteína en un promedio de 3 g/L.

En la coagulación, las plaquetas liberan potasio al suero; la concentración de potasio en el plasma es aproximadamente de 0.2-0.3 mmol/L más bajo que el potasio en suero. Por razones desconocidas, la concentración de fósforo es más baja en plasma por un promedio de 2 g/L. En pacientes con algunos trastornos hematológicos estas diferencias son exageradas. Con estas pocas excepciones, el suero y el plasma heparinizado son usados indistintamente para pruebas de laboratorio.

La selección del tipo de muestra depende de la instrumentación, métodos de ensayos y de la necesidad de rapidez en los resultados. El EDTA, contenido en el tubo utilizado para la recolección de muestras en hematología, es usado también para algunos ensayos químicos porque la quelación de los cationes divalentes inactiva muchas enzimas y conduce a cambios in vitro de hormonas peptídicas y lípidos. La quelación de cationes tales como el hierro, magnesio y calcio, sin embargo, causa una disminución artificial de los resultados en la mayoría de los ensayos colorimétricos y reduce la actividad de enzimas, que requieren cationes activadores (fosfatasa alcalina y creatin cinasa). La contaminación de muestras con anticoagulantes, especialmente EDTA, es un problema común en muchos laboratorios. Debido al potencial del EDTA para interferir en muchos ensayos, lo recomendable será que los tubos conteniendo EDTA deban llenarse al último. Si se está usando anticoagulante líquido, es importante asegurarse que sea proporcional la cantidad de sangre y anticoagulante.⁶

D) Errores relacionados con los tubos separadores de suero: Los tubos separadores de suero y plasma son usados por muchos laboratorios para simplificar el proceso de separación del suero (o plasma) de los elementos celulares. Dichos tubos contienen un gel relativamente inerte e impenetrable, el cual tiene una densidad intermedia entre los elementos celulares y el plasma o suero. Durante la centrifugación, el gel se levanta desde el fondo del tubo y forma una barrera mecánica que evita que los cambios metabólicos afecten las concentraciones plasmáticas. Los tubos que contienen estos geles pueden ser centrifugados y almacenados sin ser destapados, reduciendo así el riesgo de producir aerosoles infecciosos y evitando en forma simultánea la evaporación. Algunos agentes terapéuticos se adsorben en el gel, disminuyendo falsamente las

concentraciones de antidepresivos tricíclicos y ciertas drogas antiarrítmicas como el flecainide. Con estas excepciones, la mayoría de sustancias en plasma no son afectadas por el uso de geles separadores.⁶

E) Errores relacionados con las técnicas de recolecta inadecuada:

- **Torniquetes:** El uso de los torniquetes constituye una importante causa (controlable) de variación en los resultados de pruebas de laboratorio. Los torniquetes son ampliamente usados en flebotomías para bloquear el retorno venoso, causando dilatación de las venas y haciendo más fácil la identificación de un sitio de venopunción.

Los torniquetes a menudo permanecen colocados durante el proceso de venopunción asumiendo que la continua dilatación venosa permitirá una colecta más rápida de la muestra y evitará el "colapso" de la vena. Aunque los torniquetes hacen el proceso de flebotomía más fácil, la disminución en el flujo de sangre que éstos inducen, causa cambios en los resultados de las pruebas de laboratorio que pueden predecirse.

Un minuto después de aplicar el torniquete, el incremento de presión causa pérdida de agua y electrolitos del plasma hacia el espacio del fluido extracelular, produciendo una elevación en la concentración de proteínas, células y sustancias unidas a células y proteínas. Si un torniquete se deja por 5 minutos, la elevación en la concentración puede alcanzar hasta 15%. La magnitud de estos efectos puede diferir entre el primero y el último tubo colectados, mostrando una hemoconcentración mayor en las últimas muestras.⁶

- **Hemólisis:** La hemólisis ocurre cada vez que hay un trauma en los relativamente frágiles eritrocitos, ya sea durante la colecta o con menor frecuencia después de la flebotomía. Una causa poco común de hemólisis, es cuando se lleva a cabo la flebotomía antes de que se seque el alcohol o cualquier otro desinfectante usado. Frecuentemente, la hemólisis es causada por un flujo turbulento no laminar, durante el proceso de colecta. Dentro de los tamaños de agujas que comúnmente se utilizan, la hemólisis no es causada por el uso de agujas muy grandes o muy pequeñas.

El flujo no laminar ocurre comúnmente cuando la sangre se mueve muy lentamente o demasiado rápido a través de la aguja. Si la sangre se extrae con una jeringa, al sacar el embolo con fuerza o al inyectar la sangre en los tubos usando presión en el embolo, generalmente se produce hemólisis. En forma similar, el flujo de sangre lento de una vena colapsada que es depositado a un tubo con vacío a menudo produce una muestra hemolizada. La turbulencia en un tubo conteniendo sangre también puede causar hemólisis después de haber terminado la colecta; los transportadores mecánicos y centrífugas en mal estado son causas raras de hemólisis.

La hemólisis altera los resultados de las pruebas de laboratorio. De manera importante el contenido de los glóbulos rojos es liberado, incrementando la concentración de sustancias intracelulares tales como lactato deshidrogenasa (LDH), potasio y magnesio, mientras que disminuye la concentración de solutos extracelulares como el sodio.⁶

- **Contaminación con fluidos intravenosos:** A muchos de los pacientes hospitalizados, por prescripción médica se les administra fluidos intravenosos, los cuales típicamente tienen una concentración más alta de glucosa, drogas y

algunos electrólitos, que los que están presentes en la sangre. La contaminación con fluidos intravenosos ocurre, cuando la sangre es extraída de una vena conectada a la vena que tiene el catéter. Aunque pudiera parecer que una vena en el antebrazo es suficientemente distante del catéter, hay una gran cantidad de interconexiones. Cualquier extracción de sangre de una vena que se encuentre en el mismo lado donde está instalado un catéter, corre el riesgo de experimentar contaminación por fluidos.⁶

F) Errores relacionados con la identificación del paciente y la muestra correspondiente: Debido a que no hay forma de probar que una muestra sin etiqueta pertenece a un paciente dado, resulta esencial la identificación apropiada de las muestras. Mientras que el etiquetado puede parecer la parte más simple de la colecta de muestras, en la mayoría de los laboratorios es la causa más común de resultados erróneos. Muchos errores se cometen cuando se etiquetan muestras de pacientes con nombres similares (6)

3. Causas de Variación Posteriores a la Recolecta

La causas de variación posteriores a la recolecta son más fácilmente controladas por el laboratorio que las variaciones relacionadas con la flebotomía, ya que es posible desarrollar criterios para las condiciones aceptables de almacenamiento y manejo de muestras después de la colecta, durante el tiempo que las muestras están en posesión del laboratorio. Dentro de las variables en el manejo de muestras que afectan los resultados de las pruebas están: transporte, separación del suero de los elementos celulares y las condiciones de almacenamiento.⁶

A) Transporte de las muestras: Comúnmente las muestras son transportadas por los flebotomistas o por los mensajeros. Una tardanza razonable en la transportación, por lo general es bien tolerada por la mayoría de los compuestos analizados, ya que los cambios metabólicos ocurren relativamente despacio a temperatura ambiente. Así, la tardanza hasta de una hora no cambia la concentración de la mayoría de los compuestos analizados. La glucosa, a menudo considerada una de las sustancias más lábiles en la sangre disminuye de 2 a 3% por hora, a temperatura ambiente, en tubos sin inhibidores glucolíticos como el fluoruro. Los productos del metabolismo (como lactato, amonio y el ion hidrógeno) se acumulan en el plasma después de la toma de la muestra, a menos que las reacciones enzimáticas sean retardadas.⁶

- Procedimiento para minimizar errores de transportación: Para minimizar la variación posterior a la colecta, los especímenes deben ser entregados y almacenados rápidamente después de la toma de muestras. Los compuestos analizados que están sujetos a cambios de concentración in vitro a temperatura ambiente, inmediatamente deben ser transportados en hielo al laboratorio. Las instrucciones de manejo deben ser claras; en muchos casos, las muestras son colocadas incorrectamente sobre hielo, transportadas sobresaliendo de un recipiente con hielo o sumergidas en hielo sin agua. Debido a que un sólido conduce calor más lentamente que un líquido, las muestras manejadas de esta manera, no se enfriarán tan rápido y pueden mostrar cambios en la concentración del compuesto analizado. Aunque el enfriamiento de las muestras durante su transporte minimiza muchos cambios artificiales en la concentración de compuestos analizados, el enfriamiento también incrementa la liberación de potasio de las células. Para una sustancia que sufre cambios en la

concentración debidos al metabolismo in vitro, debe indicarse un tiempo específico tolerable de retraso.⁶

B) Procesamiento de muestras: La centrifugación es el método más comúnmente usado para la separación inicial del suero y las células. En general, la centrifugación de muestras por 5 a 10 minutos a 1000-2000 G es adecuada para la completa separación del suero y eritrocitos, incluyendo las muestras que contienen geles separadores de suero o plasma. Las muestras para obtener suero deben ser centrifugadas únicamente hasta que la formación del coágulo sea completa (al menos 20 a 30 minutos después de su colecta). Se debe tener la precaución de revisar que realmente el coágulo se haya formado, ya que puede haber razones fisiológicas para que ocurran tiempos prolongados de formación del coágulo. Por ejemplo, las muestras de pacientes de diálisis pueden continuar coagulándose por horas después de la colecta debido a la heparina empleada en la preparación de dichos pacientes.

Con tubos que no contienen geles separadores, es necesaria una etapa adicional para completar la separación. Antes de la centrifugación, los objetos tales como perlas de vidrio, tapones o cualquier otro objeto mecánico puede ser adicionado a los tubos para realizar la misma función que el gel. El suero debe ser separado de las células, de otra manera, las células sanguíneas continuarán llevando a cabo sus funciones metabólicas y alterarán la composición del espécimen.⁶

C) Almacenamiento de muestras: Una vez que el suero o plasma ha sido separado de las células, la mayoría de las sustancias en un período de 2-3 días muestran pequeños cambios en la concentración cuando se mantienen a 4 °C. Para compuestos analizados lábiles, incluyendo, enzimas y algunas otras sustancias, las muestras deben ser congeladas para prevenir cambios relacionados con el almacenamiento.

Los compuestos analizados que pueden ser intrínsecamente estables en almacenamiento, también pueden cambiar en presencia de otros compuestos; la evaporación puede incrementar la concentración de la muestra. Cuando una muestra no está cubierta, la velocidad de evaporación es afectada por la temperatura, humedad, movimiento del aire y el área superficial de la muestra.⁶

- Procedimientos para minimizar errores por almacenamiento: Los errores por almacenamiento pueden ser evitados seleccionando adecuadamente la hora, la temperatura y las condiciones de almacenamiento. La mayoría de los compuestos analizados son estables, cuando se almacenan refrigeración durante 72 horas. Si un compuesto analizado no es estable, las muestras deben ser congeladas, hasta su análisis. La mayoría de especímenes pueden almacenarse a -70 °C sin que sean afectadas las concentraciones de los compuestos analizados, más que cuando sean congelados por varios años. A las temperaturas estándares de congelación de -10° a -2 0° C, la mayoría de las sustancias serán estables por períodos más cortos.

Debe evitarse la descongelación y recongelación repetidas de muestras; esto es especialmente problemático con los congeladores modernos "libres de escarcha", los cuales periódicamente incrementan la temperatura de congelación para permitir la fusión de la escarcha. Los compuestos analizados que son susceptibles a ciclos repetidos de congelación y descongelación, como el complemento, deberán ser almacenados en otro tipo de congeladores. Las muestras congeladas deben ser descongeladas lentamente a temperatura ambiente o en un baño de agua a 37 °C, y entonces ser mezcladas meticulosamente antes de su análisis.⁶

4. Criterios para el rechazo de especímenes

Para evitar el reporte de resultados falsos, cada laboratorio debe establecer el criterio para el rechazo de especímenes. Un espécimen debe ser rechazado cuando los resultados obtenidos en su análisis no representan el estado del paciente.

La causa más común de rechazo de un espécimen se origina por una identificación inadecuada. Los especímenes deben tener el nombre del paciente y número de identificación tanto en la muestra como en la requisición; aquellos que no son extraídos por el personal del laboratorio deberán ser cuidadosamente revisados antes de ser aceptados en el laboratorio.

En especímenes que requieren manejo especial, las causas más comunes de rechazo son la colecta y/o transporte inadecuado; cada laboratorio deberá tener una lista de muestras alternativas aceptables para cada prueba; por ejemplo, el manual del laboratorio puede sugerir la colecta de suero para una prueba en particular, pero una muestra de plasma heparinizado puede ser una alternativa aceptable. Si las muestras contienen otros anticoagulantes o preservativos, deben ser rechazadas (aunque sean útiles para otros análisis). Cuando las muestras se manejen en tubos que contienen anticoagulantes o preservativos, se indicará la proporción hay entre los mismos. Esto es más crítico con preservativos en soluciones líquidas, pero puede ocurrir también con anticoagulantes en polvo. Los tubos que no tengan la proporción apropiada no deben ser aceptados para análisis. Para pruebas que requieren una preparación especial del paciente y si ésta no se llevó a cabo, las muestras deben ser rechazadas. Si una prueba es afectada por hemólisis, los especímenes hemolizados deben rechazarse. Así mismo, si el resultado de una prueba es afectado por lipemia (y la muestra no puede ser clarificada por ultra centrifugación antes del análisis), este resultado de la prueba no deberá ser reportado. Aunque muchos médicos se quejen cuando el laboratorio no les reporta el resultado de las pruebas que solicitaron para sus pacientes, si hay alguna duda acerca de la validez de un resultado este no debe ser reportado, ya que los resultados erróneos pueden conducir al tratamiento inadecuado del paciente.⁶

2.2.1 TOMA DE MUESTRA VENOSA, CAPILAR Y ARTERIAL ADEMÁS DE OTROS LÍQUIDOS BIOLÓGICOS

La flebotomía constituye una de las etapas más importantes en el trabajo del laboratorio clínico. Por una parte representa el primer contacto entre el laboratorio y sus pacientes, y respecto a la muestra sanguínea: la enorme importancia que conlleva una muestra apropiadamente colectada, la seguridad de su origen, y el correcto envasado y transporte constituyen factores fundamentales en la evaluación e informe de los exámenes a realizar¹¹.

El organismo utiliza la sangre para el transporte de oxígeno, alimento, residuos y otros materiales que hay en el interior del cuerpo, y también para regular la temperatura corporal, los líquidos y el equilibrio ácido básico. Debido a las múltiples funciones de la sangre dentro del cuerpo, los exámenes de ésta o de sus componentes pueden suministrar indicios claves para el diagnóstico de muchas condiciones médicas.

La sangre está compuesta de una porción líquida (plasma) y de una porción celular; el plasma contiene varias sustancias que están disueltas en el líquido. El suero es lo que queda, cuando el fibrinógeno se ha separado del plasma (líquido que queda después de que se deja coagular la sangre en un tubo de ensayo). La porción celular de la sangre consta principalmente de glóbulos rojos, pero también tiene glóbulos blancos y plaquetas.⁸ Los tubos al vacío han reemplazado a las jeringas. Estos tubos pueden estar siliconados

para evitar la hemólisis de la muestra, vienen preesterilizados por irradiación y presentan tamaños de 2 a 30 mL.

Durante la recolección de la sangre y hasta que el suero es separado de los glóbulos rojos, debe reducirse la posibilidad de hemólisis (utilizando agujas de calibre adecuado, tubos limpios y secos, un mezclado suave, etc.) ya que la hemólisis produce la elevación in vitro de la concentración de los metabolitos del suero, al liberarse estos de los eritrocitos (fósforo, sodio, hemoglobina, proteínas totales, lípidos, enzimas, bilirrubinas, etc), también puede provocar un efecto de dilución de los componentes químicos del suero, al liberarse sustancias del interior de los eritrocitos⁹. Si se toma varias muestras de sangre, con tubo al vacío y una sola punción venosa hay que tener precaución de poner los tubos en un orden definido para evitar la contaminación cruzada entre tubos.

El orden recomendado de la toma, cuando se efectúa una recolección múltiple de muestras es el siguiente:¹⁰

1. Tubos sin anticoagulante (Rojo).
2. Tubos para pruebas de coagulación. (Azul).
3. Tubos con otros anticoagulantes (Lila, Verde, Verde-Gris y Amarillo)

Cuadro 1. Tubos de Flebotomía y su aplicación

Muestras	Anticoagulante	Color de tapón	Bases químicas	Aplicación
Flebotomía				
Plasma	Citrato	Azul	Captura calcio	Coagulación
	EDTA	Lila	Captura calcio Hematología	
	Heparina	Verde	Inhibe trombina	Química
	Citrato	Negro	Captura calcio	Coagulación
Agentes antiglucolíticos				
Suero	Yodoacetato	Gris	Inhibe la gliceral-dehído-3-fosfato deshidrogenasa	Glucosa, ácido láctico
Plasma parcial	Fluoruro	Gris	Inhibe la enolasa	Glucosa
Tubos especiales				
Suero	Ninguno	Azul brillante	Libre de contaminantes	Oligoelementos, metales pesados
	Ninguno	Marrón	Libre de plomo	Plomo
	Separador de suero	Gris/rojo	Barrera de gel	Química

2.2.2 FLEBOTOMÍA (PRÁCTICA)

OBJETIVOS

- Definir y realizar los procedimientos necesarios para minimizar los errores en la toma de muestras.
- Definir y aplicar adecuadamente el procedimiento para la punción venosa.
- Validar la enorme importancia para obtener una muestra apropiadamente colectada, su correcto envasado y transporte.

- Realizar la punción venosa entre los alumnos y utilizar el modelo brazo mecánico para manejo de material utilizado en la punción

MATERIAL

- Para desinfectar la piel:
 - Alcohol isopropílico al 70%.
 - Algodón.
 - Gasas.
- Para punción de la vena
 - Ligadura de goma de látex (2-5 mm de diámetro por 35-40 cm. de largo).
 - Tubos al vacío correctamente identificados.
 - Soporte para tubos VACUTAINER A
 - gujas desechables estériles calibre 20, 19 o 18
 - Recipiente para desechos punzo cortantes
 - Bolsas rojas para desechos biológicos

CONDICIONES DE LA TOMA DE MUESTRA DE SANGRE VENOSA⁹

- Es necesario que la persona que va a tomar la muestra adopte actitud de confianza, autoseguridad y equilibrio.
- Conocer y realizar los procedimientos necesarios para minimizar los errores en la toma de muestras.
- Debe explicar brevemente al paciente las maniobras que va a realizar para obtener la mayor colaboración posible.
- Debe tranquilizarse al paciente para disminuir el estado de estrés.
- Revisar que todo el material esté listo (tubos rotulados, torundas de algodón, alcohol, ligaduras, jeringa, gradilla, tapones).
- El paciente y el operador deben estar en posición confortable y en un sitio con buena iluminación.
- El paciente debe estar sentado en una silla y debe extender el brazo sobre el borde de una mesa, encima de una toalla desechable, para tener acceso fácil y cómodo a la fosa antecubital.
- Evitar el uso de bancos altos sin respaldo. Es necesario tener en cuenta el tipo de análisis, el volumen de la muestra y la edad del paciente.
- Para volúmenes pequeños de muestra es recomendable utilizar el lóbulo de la oreja, pues en caso de utilizar los dedos de la mano se corre el riesgo de infecciones por contaminación en el trabajo de laboratorio.
- Para un volumen mayor, el sitio más adecuado es la vena que se encuentra en el pliegue anterior de la flexión del codo, se recomienda utilizar la vena mediana basilíca o cefálica (Fig 1)
- En los pacientes obesos las venas que se observan azulosas son demasiado superficiales y pequeñas y es mejor no utilizarlas. Es conveniente que el paciente no mire mientras se está realizando la punción.

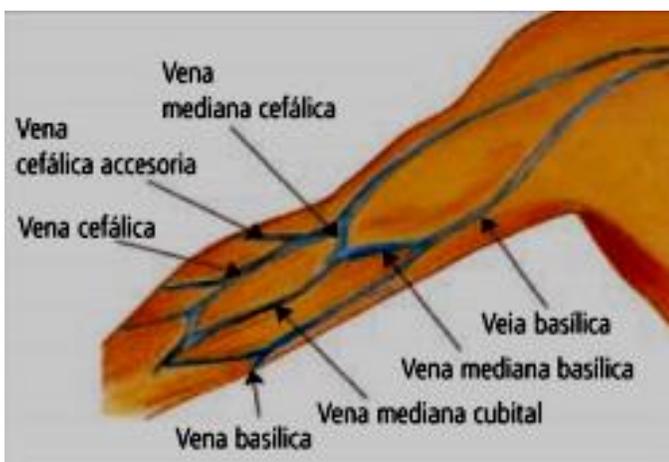


Figura 1. Selección del sitio de punción

DESARROLLO DE LA PRÁCTICA:

1. Verificar que las etiquetas coincidan con la solicitud de las pruebas.
2. Se identifica al paciente comprobando su nombre completo y fecha de nacimiento. Si se encuentra inconsciente, debe verificarse su identidad a través de una enfermera o un familiar. No se debe extraer muestra alguna sin identificar adecuadamente al paciente.
3. Si se solicita una muestra en ayunas, debe comprobarse que el paciente no ha ingerido alimentos. Hay que dirigirse al paciente e informarle sobre el procedimiento.
4. Se debe colocar adecuadamente al paciente, según se encuentre sentado o en decúbito prono, para tener acceso fácil a la fosa antecubital.
5. Se debe preparar todo el material, incluidos los tubos, la ligadura, los objetos para limpiar la piel, las jeringas; cuando sea necesario, la aguja estéril y el dispositivo para fijarla.
6. Se solicita al paciente que cierre el puño para que las venas resulten más palpables.
7. Se selecciona la vena adecuada para la punción
8. Se limpia la zona de la punción con una torunda humedecida con alcohol isopropílico al 70%. Se comienza en el punto de la punción y se prosigue la limpieza hacia fuera siguiendo un movimiento espiral.
9. Se aplica un torniquete varios centímetros por encima de la zona de punción. No dejarlo más de un minuto.
10. Se fija la vena tanto por encima como por debajo del lugar de punción, con ayuda de los dedos pulgar y medio o índice y pulgar.
11. Se realiza la venopunción:
 - a) Se penetra la piel con la aguja formando un ángulo de 15° con el brazo y con el bisel hacia arriba, se sigue la dirección de la vena
 - b) Se introduce la aguja con suavidad pero con rapidez para reducir las molestias. No hay que “enterrar” la aguja;
 - c) Si se utiliza una jeringa, se tira hacia atrás del émbolo, con tensión lenta y uniforme a medida que la sangre va fluyendo en su interior; una vez que ha sido extraída la muestra se transferirá la sangre a los tubos correspondientes después de retirar la aguja.
 - d) Si se utiliza un tubo al vacío, en cuanto la aguja haya penetrado en la vena se dirigirá el tubo todo lo posible hacia delante apoyándose en el dispositivo de sujeción (de la misma forma en que se introduce el émbolo de una jeringa). Al mismo tiempo mantenga firmemente la aguja en su lugar. Una vez que se haya llenado el tubo, se retira cogiéndolo por su extremo y tirando suavemente de él. Se mezcla la sangre con el anticoagulante por inversión suave.

2.2.3 CUESTIONARIO

1. ¿A qué se le llama flebotomía?
2. En toma de muestra sanguínea ¿Cuáles son las venas de elección para punción venosa en el adulto?
3. ¿A qué se le llama Fase Pre-Analítica?
4. ¿Cómo influye en una toma de muestra sanguínea: Edad, Sexo, Raza, Zona?
5. ¿Cómo influye en una toma de muestra sanguínea: El Ayuno, Ejercicio, Dieta, Postura, Alcohol, Tabaco, Fármacos, Tiempo de torniquete?
6. ¿Cuáles son las condiciones en las que se debe presentar un paciente previas a una toma de muestra sanguínea, según el estudio solicitado?
7. Tipos de muestras biológicas en el laboratorio Clínico y su recolección con calidad.

8. ¿Cuáles son las condiciones de preparación y separación de una muestra para su almacenamiento, conservación y estabilidad?
9. ¿Qué analitos se ven afectados en una muestra: Hemolizada, Ictérica y Lipémica?
10. ¿Cuáles son los analitos que se consideran de Urgencia, de Rutina y Pruebas Especiales?
11. ¿Qué es Suero, Plasma y Tubo Primario?

2.3 ETAPA ANALÍTICA

En la fase analítica se realizan las mediciones y observaciones en función de los procesos o protocolos que cubre el laboratorio. Cada procedimiento de análisis describirá no sólo las mediciones y observaciones implementadas en el laboratorio, sino también la verificación de las características de ejecución, que pretende la persona que elaboró el procedimiento o el fabricante del sistema analítico. Los procedimientos, materiales de sistema de control, varían según la especialidad. Algunas veces los valores obtenidos son variables continuas (método cuantitativo), en otros casos las variables son discretas (semicuantitativas y cualitativas), pero en todos los casos, en la fase analítica se debe considerar la medición u observación y un procedimiento de control. La selección del procedimiento se basa en los criterios de practicabilidad y confiabilidad. Los aspectos de practicabilidad incluyen la educación y el entrenamiento requerido, disponibilidad de reactivos, los requerimientos instrumentales, el tiempo de ejecución, el costo y la seguridad.

El personal encargado de elaborar los procedimientos con base en un estándar de operación, debe cuidar estos aspectos al igual que la industria que los adapte a su versión comercial y es importante tomarlos en cuenta antes de seleccionar un procedimiento que se vaya a implementar en el laboratorio. Los criterios de confiabilidad describen la ejecución analítica del método cuando se utiliza en condiciones rutinarias y son los siguientes: la exactitud en la ejecución, la precisión (expresada como una desviación estándar o coeficiente de variación), la veracidad (expresada como desviación), la linealidad, la especificidad analítica, la interferencia analítica, el límite de detección, el intervalo de medición y el error total. Las características anteriores pueden variar de un laboratorio a otro, ya que la implementación de cada uno de ellas modifica las condiciones óptimas.

La etapa o fase analítica en química clínica, también incluye otros aspectos como son: la calibración, los estándares de calibración, los métodos de medición, la capacidad de rastrear los resultados para validarlos, los cálculos para los resultados, la utilización de curvas de medición, el uso de relaciones teóricas para algunas magnitudes, las transformaciones de resultados para hacerlos más informativos al médico, el uso de computadoras y analizadores, los procedimientos que permiten monitorear la ejecución de un procedimiento de medición con el propósito de una acción correctiva, el uso de materiales o sueros control y la preparación del mismo, el establecimiento de los límites de control, la realización de gráficas de control, la interpretación de las mismas, el uso de reglas de control, el archivo de todo lo relativo al control de calidad para posteriores requerimientos, entre otros aspectos.⁷

2.3.1 PRÁCTICA “ESTUDIO DE LA VARIACIÓN EN CONDICIONES DE RUTINA. (VCR) CON LA DETERMINACIÓN ANALÍTICA EN UNA MUESTRA CONTROL (NORMAL O ANORMAL) DE PROTEÍNAS POR EL MÉTODO COLORIMÉTRICO

Todos los laboratorios de salud deben tener un sistema para valorar la calidad de su trabajo. La experiencia ha demostrado que entre los laboratorios que han aceptado esta recomendación, existen muchos que han elegido métodos de ensayo de la variación de los resultados que persiguen más la satisfacción y la seguridad que la información veraz y

completa sobre su calidad. Existen tres posibles causas de variación en el laboratorio de la salud:

- Errores al azar
 - Error en la lectura de los instrumentos.
 - Errores aleatorios en los cálculos.
 - Errores de transcripción incluyendo la transposición de números.
 - Colocación incorrecta de la coma decimal.
 - El uso de un espécimen incorrecto del paciente debido al intercambio de especímenes.
 - El uso de un reactivo o patrón preparado incorrectamente.
- Precisión: concordancia entre los resultados de una serie de mediciones.
- Exactitud: concordancia entre la medida de una serie de mediciones y el valor verdadero.

VARIACIÓN EN CONDICIONES ÓPTIMAS: La variación de las condiciones óptimas (VCO) es la menor variación que puede obtenerse para un método analítico concreto en un laboratorio individual. Deben realizarse aproximadamente 20 análisis para obtener la (VCO). El objetivo es intentar repetir los análisis en las condiciones analíticas tan ideales y constantes como sea posible. Han de aplicarse estrictamente todas las medidas preventivas necesarias. Algunas son¹³:

- Usar el mismo aparato para todas las determinaciones.
- Usar reactivos recién preparados y verificados.
- Realizar los análisis sobre un material homogéneo y estable.
- Verificar las lecturas del instrumento y los cálculos.
- Realizar los análisis en el menor intervalo de tiempo posible.
- Controlar cuidadosamente la temperatura y el tiempo.
- Evitar cambios bruscos en las condiciones ambientales; luz, temperatura, humedad.
- Asegurarse de que todos los reactivos están correctamente mezclados.
- Utilizar personal experimentado.

En resumen en el tratamiento de los resultados deben calcularse la media y la desviación estándar y más importante aún, deben representarse gráficamente los resultados individuales en una gráfica control como lo indica la siguiente gráfica:

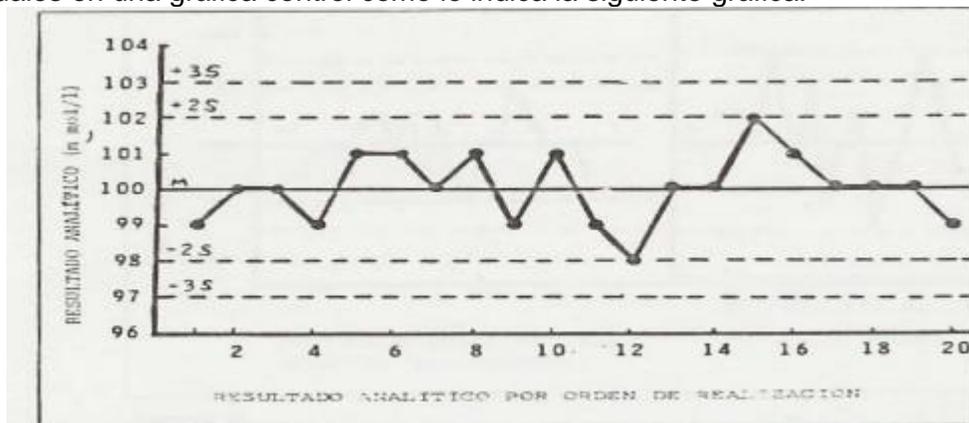


Figura 2. Gráfica de control en óptimas condiciones de variación.(M: media ; S: desviación estándar).

En esta gráfica de control se han trazado cinco líneas horizontales, una corresponde al valor medio de los valores observados, y dos líneas por encima y dos por debajo de la media correspondiendo a dos y tres desviaciones estándar de la media. En la valoración

de la VCO deben buscarse tendencias y anomalías en la distribución de los resultados, buscar su causa y resolver el problema antes de pasar al siguiente nivel.¹³

VARIACIÓN EN CONDICIONES DE RUTINA: Otra etapa en las técnicas de control de calidad es determinar la varianza en condiciones de rutina (VCR). Esta es la variación de los resultados de una técnica cuando el material es analizado en condiciones de trabajo similares a las que se encontrará cotidianamente. Este tipo de control consta de dos partes:

- La primera se refiere al análisis del material de control cuando previamente se conocen los valores del mismo (VCRC).
- La segunda se refiere al análisis de materiales cuyos valores no son conocidos (VCRN).

Con frecuencia la variación en condiciones de rutina será mayor que la obtenida en condiciones óptimas. Para la mayoría de las técnicas colorimétricas la razón entre ambas variaciones es de 2. Esto se debe a la dificultad de mantener las condiciones analíticas en situación totalmente estable durante un período prolongado de tiempo en condiciones de rutina.

Dentro de la variación en condiciones de rutina con valores desconocidos deben tomarse en cuenta tres componentes esenciales¹³:

- Utilizar más de un nivel de concentración del material de control.
- Asegurarse de que los valores “esperados” son desconocidos para el operador.
- Colocar el material de control al azar dentro de las series de análisis de la misma forma en que se colocan los sueros de los pacientes.

OBJETIVOS

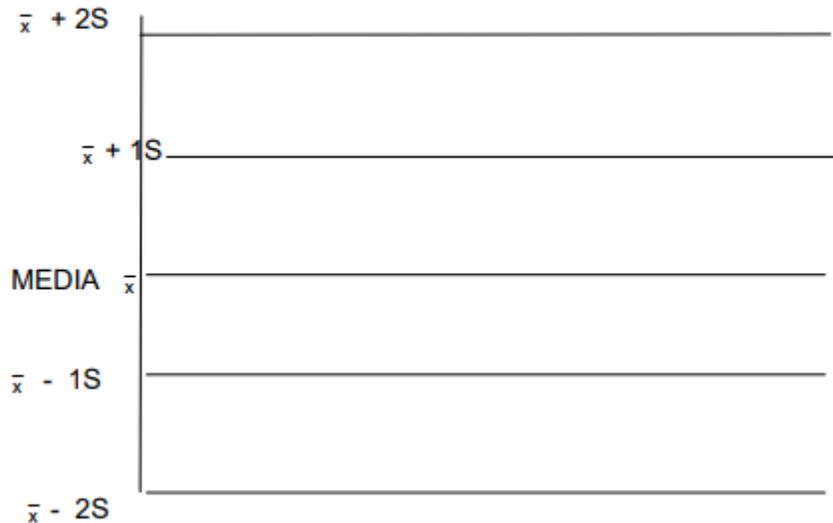
- Proporcionar resultados de análisis con exactitud y con precisión, de tal manera que se puedan obtener conclusiones y tomar decisiones basadas en una información que tenga niveles aceptables de error.
- Realizar 20 repeticiones de una muestra control comercial determinando proteínas (Ver apartado 7.1.3 Determinación de Proteínas Totales) en condiciones de rutina y determinar el coeficiente de variación que debe ser menor a 5%.
- Analizar estadísticamente los resultados obtenidos de la misma muestra para establecer el grado de precisión y exactitud.
- Determinar las fuentes de variación analítica más frecuentes en el trabajo del laboratorio.
- Manejar e interpretar adecuadamente las cartas control de Levey-Jennings.

2.3.2 CÁLCULOS, MEDIA DE COEFICIENTE DE VARIACIÓN, ELABORACIÓN DE GRÁFICAS DE LEVEY JENNINGS

Cada equipo reportará los resultados obtenidos en el pizarrón al realizar el procedimiento de la determinación de proteínas en una muestra biológica comercial. Los datos de los controles de cada equipo representaran los análisis diarios de las mezclas de control de calidad de un laboratorio (cada equipo representara un día diferente de un mes). A partir de los datos reportados:

- Calcule la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación de sus resultados.
- Grafique sus resultados en las cartas control de Levey-jennings, resaltando los límites de alerta ($\bar{x} \pm 2s$).
- Realizar la carta de control de calidad:

Gráfico de Levey-Jennings



2.3.3 AUTOANALIZADORES UTILIZADOS EN QUÍMICA CLÍNICA Y DISCUSIÓN DE GRÁFICAS

2.4 ETAPA POST-ANALÍTICA

La preservación de la calidad post-analítica es el proceso para verificar la calidad en todos los procedimientos que se llevan a cabo cuando el reporte sale del laboratorio y queda en manos del médico o profesional al cuidado de la salud. Además de utilizar intervalos de referencia correctos, las áreas de preservación de la calidad post-analítica incluyen:

- Verificación de los cálculos en los reportes finales.
- Revisión de los resultados de la prueba para detectar posibles errores de transcripción.
- Que los reportes sean fáciles de leer e interpretar.
- Procedimientos para informar al médico de resultados que requieran de atención inmediata.
- Vigilar que se reporten en el momento preciso los valores en el expediente del paciente.
- Verificar que el médico interprete en forma correcta las pruebas de laboratorio.
- Mantener una interacción constante con el personal responsable de la institución, con el fin de asegurar que el paciente reciba cuidados directos de buena calidad como resultado de las pruebas de laboratorio.

En general, la vigilancia de esta parte de la preservación de la calidad se realiza de dos maneras; suelen relacionarse con reportes de laboratorio incorrectos o con que transcurre demasiado tiempo, desde que se solicita la prueba de laboratorio hasta que se reciben los resultados finales. El otro tipo de vigilancia de la calidad en esta área, se practica mediante la valoración continua del impacto de los resultados y procedimientos del laboratorio dentro de la institución en la cual brinda sus servicios. El objetivo de estas valoraciones continuas es promover la excelencia en los cuidados para los pacientes, por medio de las relaciones humanas con todos los departamentos de la institución.

Los programas de preservación de la calidad a nivel institucional toman la forma de círculos de calidad, comités para preservación de la calidad o comités revisores. El objetivo de estos grupos no es resolver problemas sino evitar que ocurran. Además es necesario que el laboratorio tenga algún método para preservar en forma continua la calidad, verificando periódicamente su capacidad para funcionar como un departamento de buena calidad. Esto puede incluir la evaluación de los espacios disponibles en el laboratorio para asegurar eficacia en los servicios, revisar el grado de preparación del personal y apoyarlo, para que participe en actividades de actualización de conocimientos y continuar con su formación profesional

Todos los miembros del personal de laboratorio son responsables de que se preserve la calidad dentro del mismo. Esto será una forma de convivencia y una actitud evidente en todos los niveles de práctica. La calidad debe extenderse más allá de los confines físicos del laboratorio e incluye la responsabilidad de los servicios hacia cualquier médico que ordene una prueba y una preocupación permanente para que el paciente reciba tratamiento eficaz como resultado de los datos que arroja el laboratorio⁵

Una vez que se propicie un aseguramiento de la calidad de los estudios en cada una de las etapas anteriores, se podrán obtener resultados concretos respaldados con bases sólidas, es decir, se podrá afirmar entonces que se tiene un laboratorio con la adecuada estructura operativa y administrativa.

2.5 CUESTIONARIO

1. ¿Cuáles son las características evaluables de aceptación de muestras?
2. ¿Qué es un kit de Reactivos?
3. ¿Qué es un inserto y para qué sirve?
4. ¿Qué tipo de agua se utiliza para reconstituir un reactivo?
5. Lavado de Material (Cristalería) y control de calidad en el lavado de material.
6. ¿A qué se le llama Fase Analítica?
7. ¿Qué es precisión y exactitud?
8. ¿Qué es un Valor de Referencia, qué utilidad tiene en el Laboratorio y cómo se obtiene? (Métodos paramétricos y no Paramétricos).
9. ¿Qué es una curva de calibración y para qué sirve?
10. ¿Cuántas curvas de calibración existen y cuál es la que se aplica en Química Clínica?
11. ¿Cuáles son los métodos de automatización. Bitácoras, Mantenimiento?
12. ¿Qué es Linealidad, Ley de Lambert y Beer?
13. ¿Cómo mido la precisión y la exactitud de una metodología?
14. ¿Cuáles son los Fundamentos de las Metodologías: Colorimétricas, Cinéticas, Enzimáticas, Ion Selectivo, Turbidimetría, Nefelometría?
15. ¿A qué se le llama Química Sanguínea de 3, 4, 5 y 6 elementos?
16. ¿Qué es un Perfil Bioquímico?
17. ¿Qué características tiene una solicitud de exámenes de Laboratorio? (Institucional y Privado)
18. ¿Qué es muestra: estándar, control, calibrador, patrón, multicalibrador y cómo se usan cada uno?
19. ¿A qué se le llama Fase Post-Analítica?
20. ¿A qué se le llama aseguramiento de la calidad?
21. ¿Qué es una carta de control y cuántas existen?
22. ¿A qué se le llama Control Interno y Control Externo de Laboratorio?
23. ¿Cuáles son las Entidades Reguladoras de Control de Calidad?
24. ¿Cuál es la finalidad de emplear un estándar y un control en el trabajo diario en el Laboratorio?
25. ¿Qué utilidad tiene el Gráfico de Levey-Jennings?
26. ¿Cómo se construye un Grafico de Levey-Jennings?

27. ¿Qué es Tendencia, Desplazamiento, y a qué se debe?
28. ¿Cuáles son las Reglas de Westgard y para qué sirven?
29. ¿A qué se le llama validación de Resultados?
30. ¿Cuántos tipos de Blancos hay y cuándo se utilizan?
31. ¿Qué es un error Aleatorio y sistemático?

UNIDAD III

PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO RENAL

3.1 INTRODUCCIÓN

Los riñones desempeñan tres funciones principales: La eliminación de residuos, el mantenimiento del volumen y la composición del líquido extracelular (LEC), incluido el equilibrio ácido-básico y la síntesis de las hormonas. También contribuyen a la provisión de glucosa en estados de ayuno por medio de la gluconeogénesis.

Cada riñón está formado por aproximadamente un millón de unidades funcionales, denominadas nefronas. Los riñones poseen un suministro sanguíneo y normalmente reciben alrededor del 25% del gasto cardíaco, la mayor parte del cual se distribuye en los capilares glomerulares, que actúan como filtros de alta presión. El filtrado glomerular es un ultrafiltrado del plasma; es decir, tiene una composición similar a la del plasma, con la diferencia de que prácticamente carece de proteínas de alto peso molecular; esto se debe a que el endotelio constituye una barrera frente a los eritrocitos y los leucocitos y a que la membrana basal, aunque es permeable al agua y a las sustancias de bajo peso molecular, es impermeable casi por completo a las macromoléculas. Esta impermeabilidad tiene que ver tanto con el tamaño de las moléculas como con su carga eléctrica. Son filtrables las proteínas con pesos moleculares más bajos que el de la albúmina (68 kDa); las que tienen carga negativa se filtran con menos facilidad que aquellas cuya carga es positiva. Las células de los túbulos contorneados proximales reabsorben y catabolizan todas las proteínas del filtrado glomerular, lo que produce una excreción urinaria normal de proteínas.

Las enfermedades que atacan los riñones suelen dañar selectivamente el funcionamiento de los glomérulos o de los túbulos, cuya función principal consiste en filtrar agua y los componentes de bajo peso molecular de la sangre, pero no pueden filtrar las células y los componentes de alto peso molecular.

Los riñones son importantes órganos endocrinos que producen renina, eritropoyetina y calcitriol. Una enfermedad renal es capaz de alterar la secreción de estas hormonas. Además, hay varias otras hormonas que los riñones inactivan o bien secretan, y por este motivo sus concentraciones en la sangre también pueden verse afectadas por una nefropatía.

3.1.1 ÁCIDO ÚRICO

Uricasa-POD. Método enzimático-colorimétrico

1. INTRODUCCIÓN

El ácido úrico es el producto final del metabolismo de la purina en el organismo humano. El ácido úrico se determina en el diagnóstico y el tratamiento de numerosos trastornos renales y metabólicos, tales como la insuficiencia renal, la gota, la leucemia, la psoriasis, la inanición y otros trastornos nutricionales, así como en pacientes bajo tratamiento con citostáticos.

Niveles altos de ácido úrico están también asociados a patología renal por retención de productos nitrogenados, asociándose en estos casos a valores también altos de urea y de creatinina

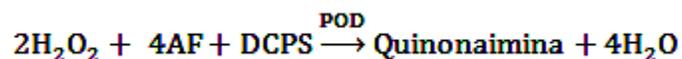
2. OBJETIVOS

- Realizar la determinación cuantitativa de ácido úrico en una muestra de suero origen humano y una muestra control de origen humano o bovino por el método enzimático colorimétrico
- Reportar en la bitácora los resultados obtenidos
- Realizar el reporte con los datos del paciente y los valores de referencia biológica o límites de seguridad biológicas
- Definir cuáles son las principales patologías que se presentan si tenemos valores altos o bajos de ácido úrico en una muestra biológica y la asociación que tiene con los valores de urea y creatinina principalmente .

3.

4. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El ácido úrico es oxidado por la uricasa a alantoína y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) que en presencia de peroxidasa (POD), 4-aminofenazona (4-AF) y 2-4 Diclorofenol Sulfonato (DCPS) forma un compuesto rosáceo:



4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero
- Plasma
- Orina de 24 horas: Diluir 1:50 con agua destilada, mezclar y seguir la técnica, manteniendo a pH>8 (Multiplicar el resultado por 50).

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Micropipeta de 1000 µL
- 1 Micropipeta de 50 µL
- 1 Piseta
- 2 Celdas de plástico de 3 mL
- 4 Tubos de vidrio de 13x100
- Puntas para micropipeta
- Gradilla

- Fotómetro con filtro de lectura de 520 nm

- Centrífuga

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Muestra
- problema
- Agua destilada
- Reactivo 1- Tampón
- Reactivo 2- Enzimas

- Calibrador
- Control Normal y/o Patológico de 1a o 3era opinión

4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

Reactivo 1- Tampón

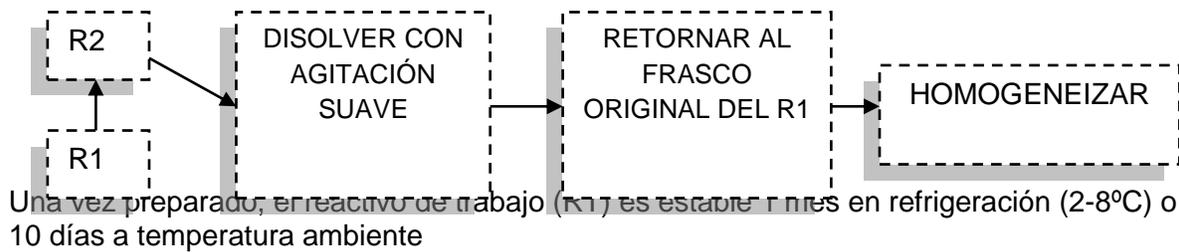
- Fosfatos pH 7,4 50 mmol/ L
- 2-4 Diclorofenol Sulfonato (DCPS) 4 mmol/ L

Reactivo 2- Enzimas

- Uricasa 60 U/ L
- Peroxidasa (POD) 660 U/ L
- Ascorbato oxidasa 200 U/ L
- 4-Aminofenazona (4-AF) 1 mmol/ L

Patrón primario de Ácido Úrico (SPINREACT) → 6 mg/ dL

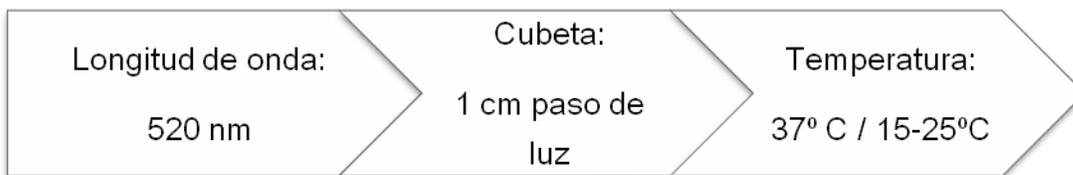
4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD



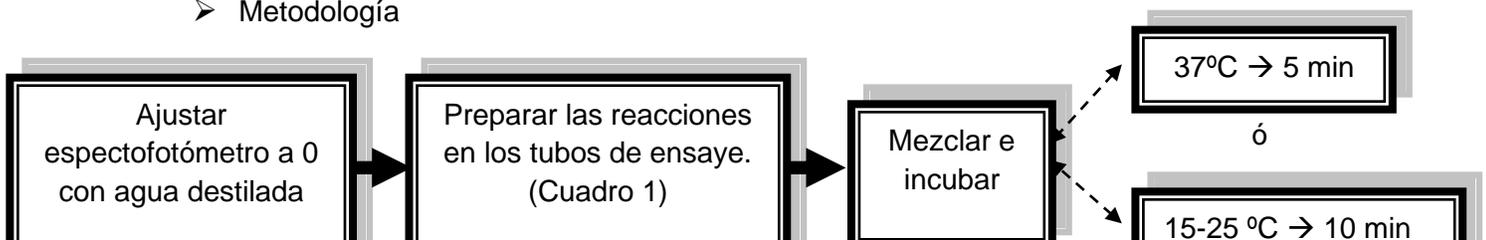
NOTA: La presencia de partículas y turbidez, así como absorbancias del blanco a 520nm mayores o iguales a 0,16 son indicadores del deterioro de los reactivos.

5. PROCEDIMIENTO

➤ Condiciones del ensayo:



➤ Metodología



Cuadro 1

	Blanco	Patrón	Control	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0	1,0
Patrón (µL)	---	25	--	--
Control (µL)	--	--	25	--
Muestra (µL)	---	--	--	25

CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

- Color estable por máximo 30 minutos
- Si la muestra de orina es turbia, calentarla a 60°C para disolver el ácido úrico
- El ácido úrico en suero es estable de 3-5 días en refrigeración (2-8°C)
- Los anticoagulantes como heparina, EDTA, oxalato o fluoruro no afectan los resultados
- Se sugiera procesar junto con las muestras algún suero control valorado para tener un control de la exactitud y precisión de los resultados
- La hemolisis (hasta 130 mg/ dL de hemoglobina), la bilirrubina hasta 170 µmol/ L y el ácido ascórbico hasta 570 µmol/L, no interfieren con los resultados
- Los detergentes son inhibidores enzimáticos, asegúrese de que el material de vidrio está perfectamente lavado y enjuagado con agua desionizada o destilada.
- Los estándares son muy ávidos a contaminarse, cuidar mucho su manipulación ya que los agentes reductores tienden a disminuir la respuesta al color, mientras que los oxidantes generan aparición de color, aumentando las lecturas de los blancos.

6. CÁLCULOS

- ✓ Suero o plasma:

$$\frac{(A)muestra - (A)blanco}{(A)patrón - (A)blanco} \times [Patrón] = \text{mg/dL de ácido úrico en la muestra}$$

- ✓ Orina 24 h

$$\frac{(A)Muestra - (A) Blanco}{(A)Patrón - (A) Blanco} \times [Patrón] \times \text{vol orina}/24 \text{ h} = \text{mg}/24\text{h de ácido úrico en la muestra}$$

- ✓ Factor de conversión: mg/dL x 59,5 = µmol/ L

7. VALORES DE REFERENCIA

- ❖ Suero o Plasma
 - Mujeres: 2,5 - 6,8 mg/ dL \cong 149 - 405 µmol/ L

- Hombres: 3,6 - 7,7 mg/ dL \cong 214 - 458 μ mol/ L
- ❖ Orina: 250 - 750 mg/ 24h \cong 1,49 - 45 mmol/ 24h

8. MANEJO DE RESIDUOS

Debido a la Azida Sódica presente en los reactivos de la práctica, los residuos no pueden desecharse en el drenaje, deberán colocarse en el contenedor de residuos etiquetado como D1-Ácido úrico, glucosa, colesterol y triglicéridos

3.1.2. UREA

Ureasa-GLDH. Cinético-UV

1. INTRODUCCIÓN

La urea es el producto final nitrogenado más importante del metabolismo de las proteínas. Se sintetiza en el hígado en el ciclo de la urea a partir del amoníaco derivado de la desaminación de los aminoácidos. Los riñones excretan la mayor parte de la urea, aunque también se excreta en cantidades mínimas a través de la transpiración y se degrada en los intestinos por acción bacteriana.

La determinación del nitrógeno de urea en sangre es la prueba más utilizada para el cribado de la función renal. Cuando se utiliza en combinación con la determinación de la creatinina sérica, contribuye al diagnóstico diferencial entre los tres tipos de azoemia (presencia de nitrógeno en la sangre): la azoemia prerrenal, renal y la posrenal.

En la enfermedad hepática sin daño en la función renal, se presenta nitrógeno ureico sérico bajo, aunque la relación urea-creatinina se puede conservar normal. La elevación en el nitrógeno ureico sérico no implica necesariamente daño renal, puesto que la deshidratación puede llevar a concentraciones de nitrógeno ureico tan altas como 600 mg/L. Los pacientes adultos muestran elevadas concentraciones de amoníaco sanguíneo en las etapas terminales de: la cirrosis hepática, la falla hepática y la necrosis del hígado aguda y subaguda. Se presagia el comienzo de la encefalopatía hepática por una elevación en el amoníaco sanguíneo.

La excreción de amoníaco urinario se eleva con la acidosis y se disminuye en la alcalosis, puesto que la formación de sales de amonio es un mecanismo importante para excretar el exceso de iones hidrógeno. Daños en los túbulos renales distales conllevan a una excreción de amoníaco disminuida sin presentar cambios en los niveles sanguíneos de amoníaco.

2. OBJETIVOS

- Realizar la determinación cuantitativa de urea en una muestra de suero origen humano y una muestra control de origen humano o bovino por el método enzimático
- Reportar en la bitácora los resultados obtenidos
- Realizar el reporte con los datos del paciente y los valores de referencia biológica o límites de seguridad biológicas
- Definir cuáles son las principales patologías que se presentan si tenemos valores altos o bajos de urea o BUN en una muestra biológica

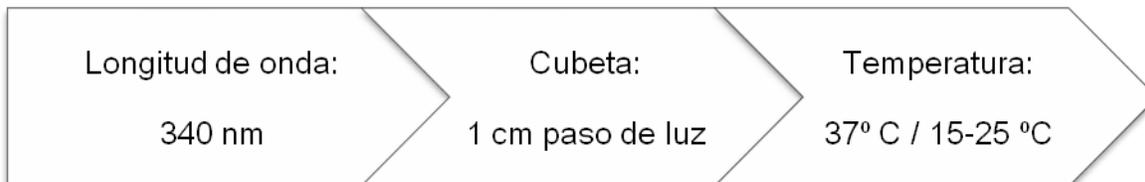
3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Una vez preparado, el reactivo de trabajo (RT) es estable 6 semanas en refrigeración (2-8°C) o 7 días a temperatura ambiente (15-25 °C)

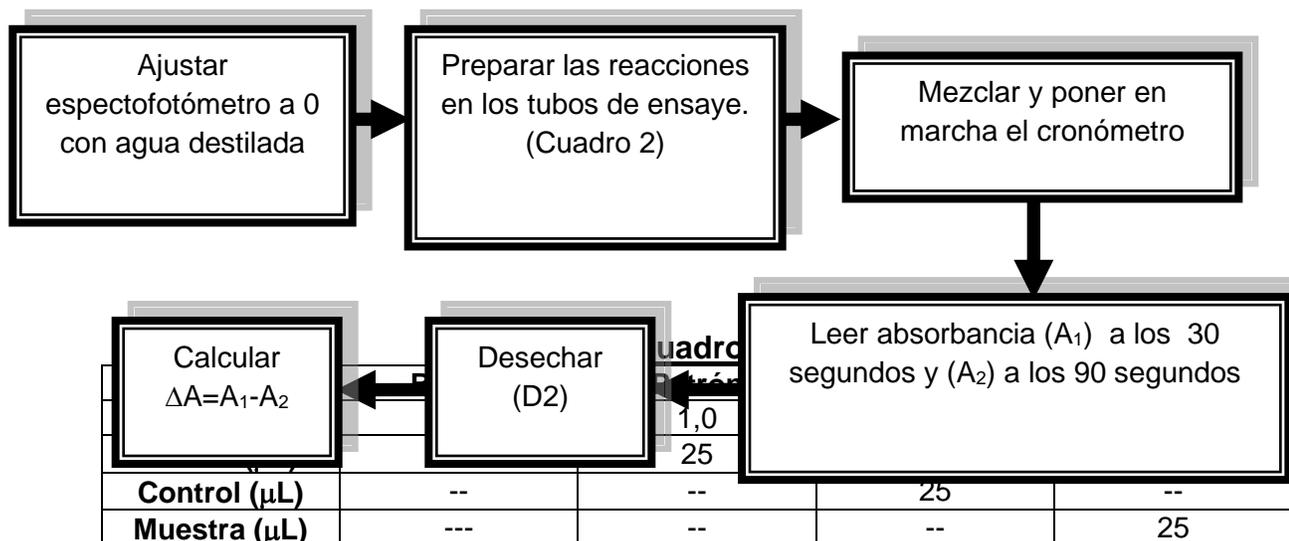
NOTA: La presencia de partículas y turbidez, así como absorbancias del blanco a 340nm mayores o iguales a 1,00 son indicadores del deterioro de los reactivos.

5. PROCEDIMIENTO

➤ Condiciones del ensayo:



➤ Metodología



CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

- No emplear sueros o plasmas turbios o hemolizados.
- No usar sales de amonio o fluoruro como anticoagulantes.

6. CÁLCULOS

✓ Suero o plasma:

$$\frac{\Delta A \text{ Muestra} - \Delta A \text{ Blanco}}{\Delta A \text{ Patrón} - \Delta A \text{ Blanco}} \times [\text{Patrón}] = \text{mg/dL de urea en la muestra}$$

✓ Orina 24 h

$$\frac{\Delta A \text{ Muestra} - \Delta A \text{ Blanco}}{\Delta A \text{ Patrón} - \Delta A \text{ Blanco}} \times [\text{Patrón}] \times \text{vol orina} / 24 \text{ h} = \text{mg} / 24 \text{ h de urea en la muestra}$$

✓ Factor de conversión: mg/dL x 0,1665 = mmol/ L

7. VALORES DE REFERENCIA

- ❖ Suero o Plasma: 15 – 45 mg/ dL \cong 2,49 – 7,49 mmol/ L
- ❖ Orina: 20 – 35 g/ 24 h

8. MANEJO DE RESIDUOS

Debido a la Azida Sódica presente en los reactivos de la práctica, los residuos no pueden desecharse en el drenaje, deberán colocarse en el contenedor de residuos etiquetado como D2-Urea

3.1.3 CREATININA

Jaffé. Método colorimétrico-cinético

1. INTRODUCCIÓN

La creatinina sérica es un producto de desecho formado por deshidratación espontánea de la creatina corporal. La mayor parte de la creatina orgánica se encuentra en el tejido muscular, donde está presente como fosfato de creatina y sirve de reserva rica en energía en la conversión a adenosina trifosfato (ATP).

La velocidad de formación de la creatinina es prácticamente constante, transformándose el 1 al 2 % de la creatina corporal a creatinina cada 24 horas. La eliminación de creatinina en el cuerpo humano tiene lugar casi exclusivamente a través de la filtración glomerular, siendo un importante índice del funcionalismo renal. A diferencia de la urea, la eliminación de creatinina por la orina no viene afectada por la diuresis.

En resumen, podemos decir que la eliminación de creatinina en un intervalo de 24 horas es un valor constante, dependiente principalmente de la masa muscular del individuo. Las concentraciones de creatinina y urea séricas se encuentran elevadas en pacientes con una disfunción renal, especialmente en caso de que la filtración glomerular esté reducida.

2. OBJETIVOS

- Realizar la determinación cuantitativa de creatinina en una muestra de suero origen humano y una muestra control de origen humano o bovino por el método enzimático colorimétrico o de jaffe modificado
- Reportar en la bitácora los resultados obtenidos
- Realizar el reporte con los datos del paciente y los valores de referencia biológica o límites de seguridad biológicas
- Definir cuáles son las principales patologías que se presentan si tenemos valores altos o bajos de creatinina en una muestra biológica
- Describir la técnica de recolección de orina 24 h y la relación de la depuración de creatinina

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El ensayo está basado en la reacción de la creatinina con el picrato de sodio descrito por Jaffé, basada en el color anaranjado-rojizo del complejo que se forma al reaccionar la creatinina con el picrato alcalino. Hay varias sustancias en el suero y orina que actúan como cromógenos inespecíficos (metilguanidina, picramato), lo que es un problema principalmente para el cálculo del aclaramiento; por este motivo tiene una gran importancia la adecuación de todas las variables de la reacción, muy especialmente el pH.

Adaptando la reacción a una medida cinética se logra una gran especificidad debido a que la creatinina reacciona con el picrato alcalino con una mayor rapidez que los cromógenos inespecíficos, por lo que el intervalo de tiempo escogido para las lecturas permite eliminar gran parte de las interferencias del método.

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero o plasma heparinizado.
- Orina de 24 horas: Diluir 1:50 con agua destilada, mezclar y seguir la técnica. (Multiplicar el resultado por 50).

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Micropipeta de 1000 μL
- 1 Micropipeta de 200 μL
- 1 Piseta
- 2 Celdas de plástico de 3 mL
- 5 Tubos de vidrio de 13x100
- Puntas para micropipeta
- Gradilla
- Fotómetro termoestable a 37°C con filtro de lectura de 490-510 nm
- Centrífuga

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Muestra problema
- Agua destilada
- Reactivo 1
- Reactivo 2
- Calibrador
- Control Normal y/o Patológico de 1a o 3era opinión

4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

Reactivo 1- Reactivo Pítrico

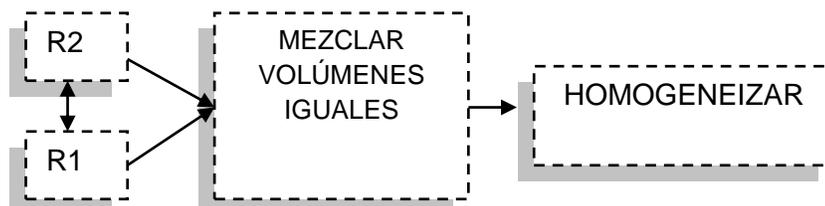
- Ácido pítrico 175 mmol/ L

Reactivo 2- Reactivo Alcalinizante

- Hidróxido sódico 0,29 mol/ L

Patrón primario de Creatinina (SPINREACT) \rightarrow 2 mg/ dL

4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD

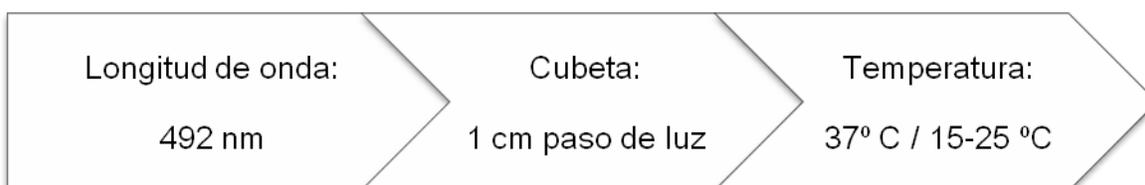


Una vez preparado, el reactivo de trabajo (RT) es estable 15 días en refrigeración (2-8°C) o 7 días a temperatura ambiente

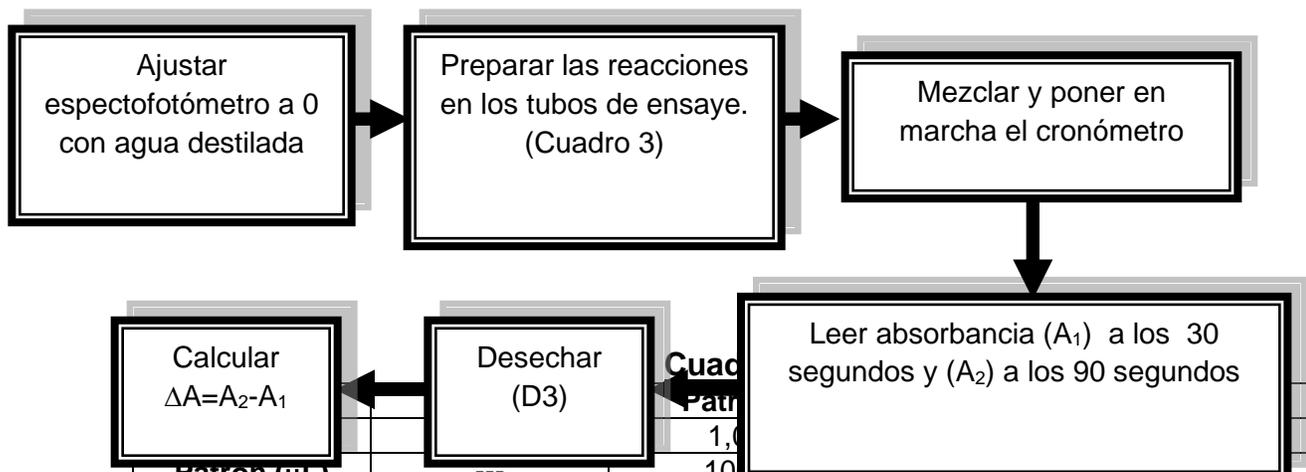
NOTA: La presencia de partículas y turbidez, así como absorbancias del blanco a 492 nm mayores o iguales a 1,80 son indicadores del deterioro de los reactivos.

5. PROCEDIMIENTO

➤ Condiciones del ensayo:



➤ Metodología



Patron (μL)	---	10		
Control (μL)	--	--	100	--
Muestra (μL)	---	--	--	100

CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

- La hemolisis (1g/ dL de hemoglobina) y la bilirrubina 55 mg/ dL INTERFIEREN.
- No utilizar sueros lipémicos.

6. CÁLCULOS

✓ Suero o plasma:

$$\frac{\Delta A \text{ Muestra} - \Delta A \text{ Blanco}}{\Delta A \text{ Patrón} - \Delta A \text{ Blanco}} \times [\text{Patrón}] = \text{mg/dL de creatinina en la muestra}$$

✓ Orina 24 h

$$\frac{\Delta A \text{ Muestra} - \Delta A \text{ Blanco}}{\Delta A \text{ Patrón} - \Delta A \text{ Blanco}} \times [\text{Patrón}] \times \text{vol orina/24 h} = \text{mg/24h de creatinina en la muestra}$$

✓ Factor de conversión: mg/dL x 88,4 = $\mu\text{mol/L}$

7. VALORES DE REFERENCIA

- ❖ Suero o Plasma
 - Mujeres: 0,6 -1,1 mg/ dL \cong 53,0 – 97,2 $\mu\text{mol/L}$
 - Hombres: 0,7 – 1,4 mg/ dL \cong 61,8 – 123,7 $\mu\text{mol/L}$
- ❖ Orina: 15-25 mg/ Kg/ 24 h
 - Mujeres: 8-18 mg/ Kg/ 24 h
 - Hombres: 10-20 mg/ Kg/ 24h

8. MANEJO DE RESIDUOS

El ácido pícrico y el hidróxido de sodio presentes en los reactivos están clasificados como H314 (Irritación o corrosión cutáneas-Categoría 1A) y H318 (Lesiones oculares graves o irritación ocular-Categoría 1) por el reglamento (UE) No. 1272/2008; por lo que se encuentran etiquetados con el siguiente pictograma de peligro:



GHS05 → Corrosión

Por lo que los residuos de dicha práctica deberán depositarse en el contenedor etiquetado como D3-creatinina, y por ningún motivo en la tarja debido a su ecotoxicidad.

3.2) EXAMEN GENERAL DE ORINA (EGO)

1. INTRODUCCIÓN

Los análisis de orina realizados en el laboratorio clínico, puede proporcionar una información amplia, variada y útil del riñón de un individuo y de las enfermedades sistémicas que pueden afectar este órgano excretor. Por medio de este análisis, es posible elucidar tanto desórdenes estructurales (anatómicos) como desórdenes funcionales (fisiológicos) del riñón y del tracto urinario inferior, sus causas, y su pronóstico. La realización cuidadosa del examen de orina, por parte del laboratorio, ayuda al diagnóstico diferencial de numerosas enfermedades del sistema urinario. Usualmente, los datos de laboratorio obtenidos por medio de este análisis, se logran sin dolor, daño o tensión para el paciente. Esta es la razón por la cual, la realización e interpretación correcta del análisis de orina, por parte del laboratorio permanecerá siempre como una herramienta esencial de la práctica clínica. En la actualidad, se practican tres tipos de exámenes de orina: análisis de orina por tira húmeda, empleado generalmente por los médicos en sus consultorios y por los pacientes en sus casas;

tamizaje de análisis húmedo de la orina, comúnmente llamado análisis básico o rutinario de orina; y citodiagnóstico de la orina, que es una evaluación citológica especializada del sedimento urinario que correlaciona con los análisis realizados por medio de la tira reactiva. El análisis de orina realizado con la tira húmeda es un ensayo de primera etapa para la detección y monitoreo de pacientes con anormalidades químicas. Los pacientes diabéticos a menudo monitorean permanentemente su propia enfermedad, buscando signos de glucosuria, proteinuria, e infecciones del tracto urinario, mediante pruebas realizadas en casa.²⁰ El análisis de orina húmedo o rutinario, proporciona, a costos razonables, un tamizaje adecuado para la detección de anormalidades químicas y morfológicas presentes en la orina. Este procedimiento se compone de dos partes:

1) un análisis macroscópico, en el cual se determinan las características fisicoquímicas (apariciencia, gravedad específica y la medición de los constituyentes químicos por medio de la tira)

2) un examen microscópico del sedimento, en campo claro o contraste de fases, para verificar hematuria, piuria, cilindruria, cristaluria, y otros signos.

Por medio de este simple examen de orina, un uromicroscopista experimentado puede detectar y monitorear muchas entidades que afectan al riñón y al tracto urinario inferior. Recientemente, el citodiagnóstico de la orina ha ganado aceptación médica como un análisis nuevo, más sensible en el diagnóstico de ciertas patologías renales y del tracto urinario inferior. Como este análisis requiere mayor inversión de tiempo debido a la preparación de coloraciones, debe reservarse para pacientes sintomáticos con enfermedades renales, del tracto urinario inferior, o neoplasias.⁶

2. OBJETIVOS

- Establecer el método adecuado de recolección de especímenes de orina para un análisis específico.
- Discutir las propiedades físicas más importantes de la orina y sus relaciones con la enfermedad.
- Identificar los constituyentes químicos más importantes de la orina, como cuantificarlos y como confirmar su presencia.
- Describir métodos adecuados para estandarización de los especímenes de orina y de los hallazgos microscópicos más comunes

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 MUESTRA CLÍNICA

Primera orina de la mañana

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

2 portaobjetos
2 cubreobjetos
microscopio
2 Tubos de centrífuga
vaso recolector de orina
Pipeta pauster
Aceite de inmersión

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

Tira reactiva de spinreact

Colorante de malbin

5. PROCEDIMIENTO

6. MANEJO DE RESIDUOS

Colocar las tiras reactivas en las bolsas de basura municipal

7. BIBLIOGRAFÍA

3.3 CUESTIONARIO

1. ¿Qué es la nefrona?
2. Esquematice una nefrona indicando cada una de las partes que la forman
3. ¿Qué es la orina y cómo se forma?
4. ¿Qué pruebas de laboratorio se utilizan para valorar la función renal y cuáles son sus valores de referencia?
5. El examen general de orina consta de tres partes, el examen físico, químico y microscópico, explique las determinaciones que se realizan en cada una de las tres partes y la información que se puede obtener de ellas.

UNIDAD IV

Equilibrio Hidroeléctrico y gases en sangre

4.1 INTRODUCCIÓN

El agua constituye aproximadamente el 60% del peso del cuerpo de los hombres y el 55% del de las mujeres; la diferencia se debe al mayor contenido de grasa corporal de las mujeres. En circunstancias normales, las cantidades de agua que entran en el organismo y salen de él son iguales durante un cierto período. El agua se obtiene de la alimentación y del metabolismo oxidativo y se pierde por los riñones, la piel, los pulmones y el intestino.

Los electrolitos están implicados en la mayoría de las funciones metabólicas del organismo. Se incorporan principalmente con la alimentación, se absorben en el tracto gastrointestinal y se excretan por los riñones. Los electrolitos son iones cargados positiva o negativamente, que están disueltos en todos los líquidos corporales, siendo el ión sodio (Na^+) el principal catión extracelular y el ión potasio (K^+) el principal catión intracelular. Dentro de las células los principales aniones son las proteínas y el fosfato, mientras que en el líquido extracelular predominan el cloruro (Cl^-) y el bicarbonato (HCO_3^-)

El equilibrio de líquidos y electrolitos es clave para el tratamiento de cualquier paciente que este gravemente enfermo. La medición en plasma de la concentración de ion sodio, potasio y cloruro, así como de urea y creatinina es el perfil bioquímico solicitado con mayor frecuencia y proporciona una gran cantidad de información sobre el estado hidroeléctrico del paciente y su función renal

4.1.1 SODIO Enzimático- colorimétrico

1. INTRODUCCIÓN

El ión sodio (Na^+) es el principal catión extracelular. Mantiene la distribución de los líquidos en el organismo y la presión osmótica.

La medición de la concentración de ión sodio en el plasma sirve para evaluar su metabolismo tanto en las enfermedades o situaciones que la aumentan, es decir que provocan hipernatremia como la diabetes insípida, aldosteronismo, pérdidas excesivas de líquidos, altas ingestiones de sal y a un aumento en la reabsorción renal, también se han descrito aumentos debido a la ingestión de etanol o menopausia. También se evalúan las enfermedades o situaciones que lo disminuyen o causan hiponatremia como la insuficiencia renal aguda, tratamiento con diuréticos, una reabsorción renal deficitaria, o por pérdidas gastrointestinales como vómitos prolongados o diarrea, aunque también se han descrito disminuciones de la concentración de ión sodio en el plasma debidas a la edad, el embarazo, la exposición al frío o a la fiebre

2. OBJETIVOS

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El sodio se determina enzimáticamente a través de la actividad de la β -galactosidasa, usando como sustrato a la o-nitrofenil- β -D-galactopiranososa (ONPG). La absorbancia del producto, o-nitrofenil, a 405 nm es proporcional a la concentración de sodio.



4. DESARROLLO EXPERIMENTAL¹

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero o Plasma con heparina de litio.

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Micropipeta de 1000 μL
- 1 Micropipeta de 50 μL
- 1 Piseta
- 2 Celdas de plástico de 3 mL

- 5 Tubos de vidrio de 13x100
- Puntas para micropipeta
- Gradilla

- Fotómetro con filtro de lectura de 405 nm
- Centrifuga

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Muestra problema
- Agua destilada
- Reactivo 1: Tampón/ enzima sustrato
- Reactivo 2: Diluyente/ Sustrato
- Calibrador
- Control Normal y/o Patológico de 1a o 3era opinión

4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

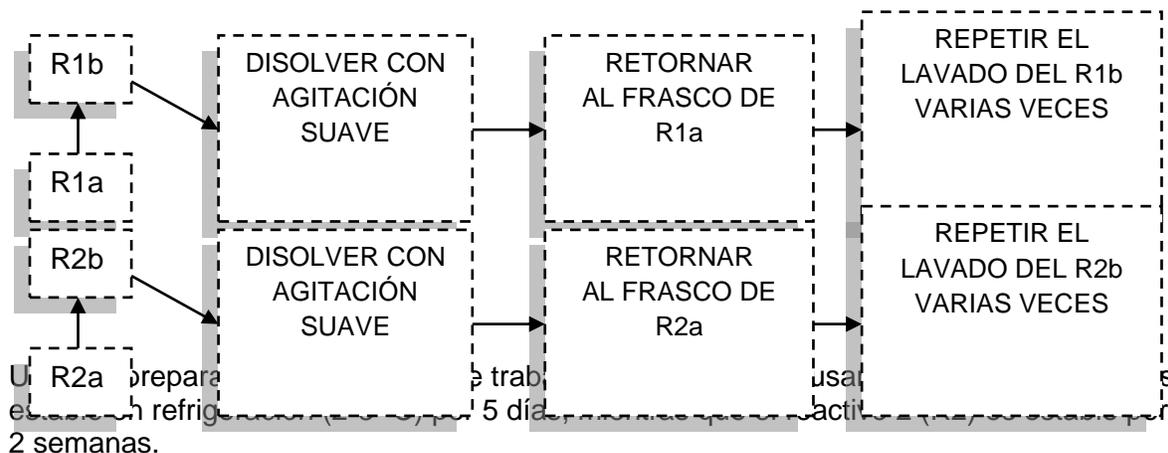
Reactivo 1- Tampón/ enzimas

- Tampón TRIS, pH 9,0 450 mmol/ L
- Cryptand 5,4 mmol/ L
- β -galactosidasa $\geq 0,9$ U/ mL

Reactivo 2-Diluyente/ Sustrato

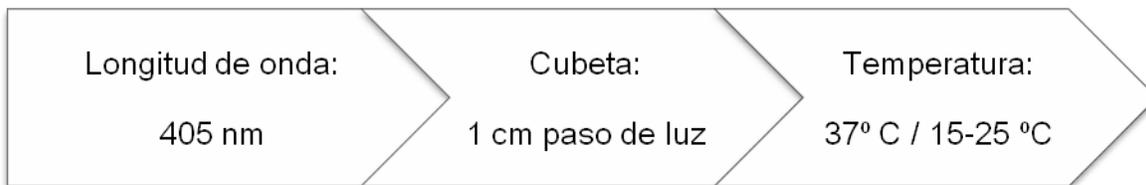
- Tampon TRIS 10,0 mmol/ L
- ONPG 5,5 mmol/ L

4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD

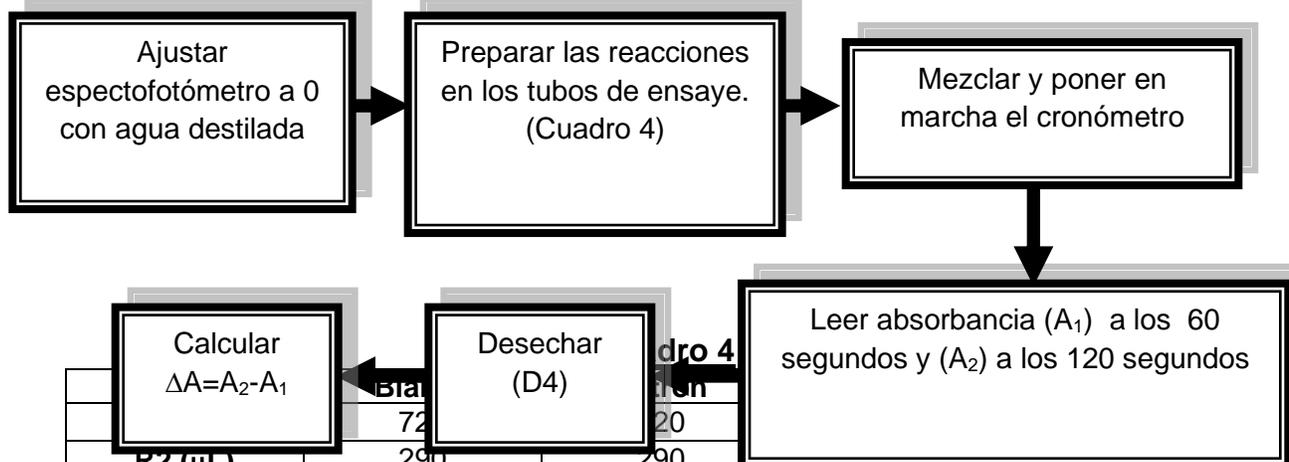


5. PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:



➤ Metodología



	72	20		
R2 (μL)	290	290		
Patrón (μL)	--	30	--	--
Control (μL)	---	--	30	--
Muestra (μL)	---	--	--	30

CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

-Usar sueros o plasmas tratados con heparina de litio

6. CÁLCULOS

✓ Suero o plasma:

$$\frac{\Delta A \text{ Muestra}}{\Delta A \text{ Patrón}} \times [\text{Patrón}] = \text{mmol/L de sodio en la muestra}$$

7. VALORES DE REFERENCIA

❖ Suero o Plasma: 136 – 146 mmol/ L ≅ 313 – 336 mg/ dL

8. MANEJO DE RESIDUOS

Debido a la Azida Sódica² presente en los reactivos de la práctica, los residuos no pueden desecharse en el drenaje, deberán colocarse en el contenedor de residuos etiquetado como D4-Sodio

**4.1.2 POTASIO
UV Test**

1. INTRODUCCIÓN

El ión potasio (K+) es el principal catión intracelular y reviste importancia crítica para actividades de las células nerviosas y musculares.

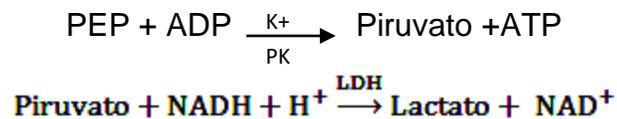
La medición de la concentración de ión sodio en el plasma sirve para evaluar su metabolismo tanto en las enfermedades o situaciones que lo aumentan, es decir que

provocan hiperpotasemia como insuficiencia renal, acidosis metabólica, hiperaldosteronismo primario, deshidratación, shock o quemaduras severas, cetoacidosis diabética o por retención renal de potasio; aunque se han descrito aumentos debido a la edad, ejercicio físico, exposición a la luz o senectud. También se evalúan las enfermedades o situaciones que lo disminuyen o causan hipopotasemia como la pérdidas gastrointestinales por diarrea o vómitos prolongados, aldosteronismo, alcalosis respiratoria, dieta que no contenga cantidades suficientes de potasio o por un incremento de su excreción renal; aunque también se han descrito disminuciones de la concentración de ión potasio en el plasma debidas a embarazo, fiebre o ingestión de etanol

2. OBJETIVOS

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El potasio se determina enzimáticamente a través de la actividad de ADP, usando como sustrato fosfoenolpiruvato. El piruvato formado reacciona con el NADH en presencia de LDH para formar Lactato y NAD. El correspondiente descenso de absorbancia a 340 nm, debido a la oxidación del NADH es proporcional a la concentración de potasio.



4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero o Plasma con heparina de litio.

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Micropipeta de 1000 μL
- 1 Micropipeta de 50 μL
- 1 Piseta
- 2 Celdas de plástico de 3 mL
- 5 Tubos de vidrio de 13x100
- Puntas para micropipeta
- Gradilla
- Fotómetro con filtro de lectura de 340 nm
- Centrífuga

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Muestra problema
- Agua destilada
- Reactivo 1: Tampón/ Enzima-sustrato
- Reactivo 2: Enzima/ Diluyente
- Calibrador
- Control Normal y/o Patológico de 1a o 3era opinión

4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

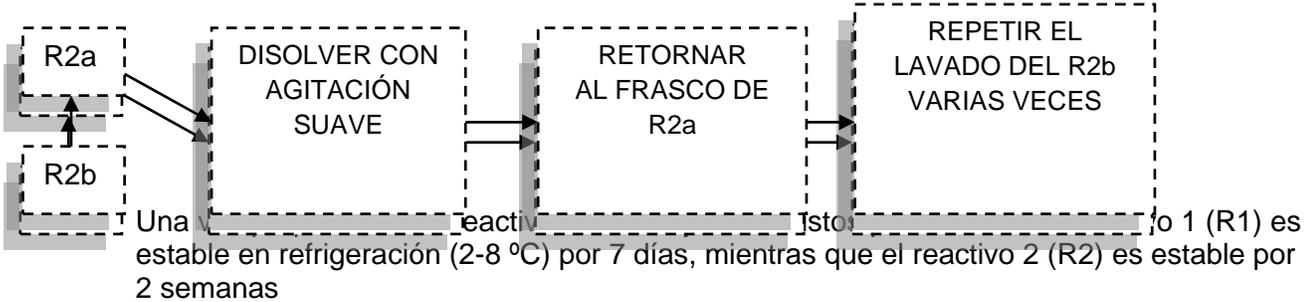
Reactivo 1- Tampón/ Enzima-sustrato

- | | | | |
|-----------------------|-------------|------------------|---------------------|
| • Tampón TRIS, pH 8,2 | 250 mmol/ L | • I-oxoglutarato | $\geq 1,2$ mmol/ L |
| • Cryptand | 12 mmol/ L | • NADH | $\geq 0,35$ mmol/ L |

- PEP $\geq 3,3$ mmol/ L
- ADP $\geq 3,15$ mmol/ L
- GLDH ≥ 11 mmol/ L
- PK $\geq 1,2$ mmol/ L

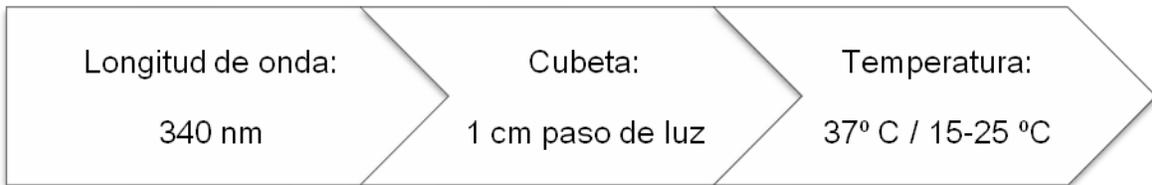
Reactivo 2- Enzima/ Diluyente \rightarrow LDH ≥ 65 U/ mL

4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD

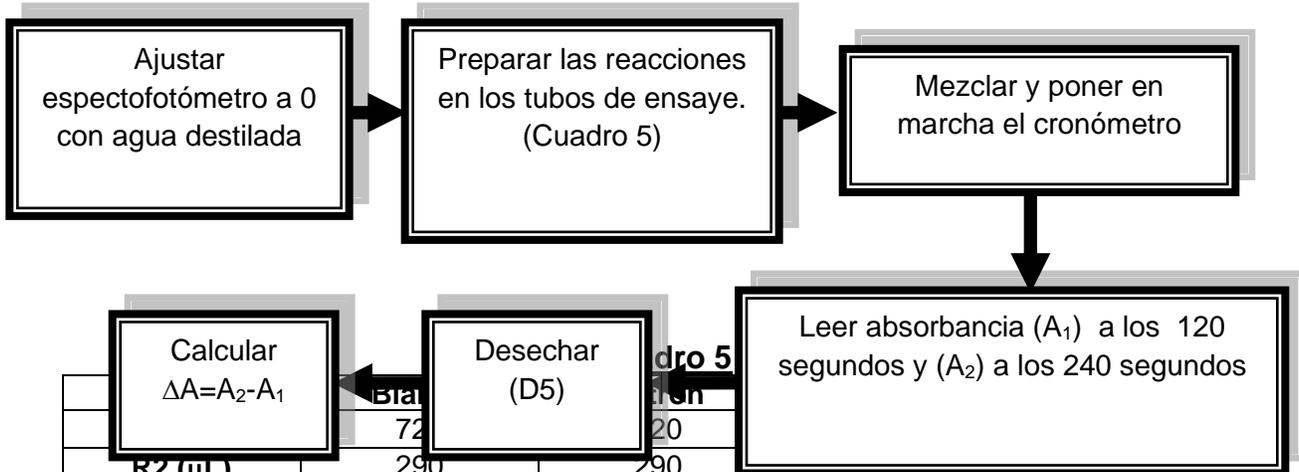


5. PROCEDIMIENTO

➤ Condiciones del ensayo:



➤ Metodología



R2 (μL)	290	290		
Patrón (μL)	--	20	--	--
Control (μL)	---	--	20	--

Muestra (μL)	---	--	--	20
---------------------------	-----	----	----	----

CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

- Usar sueros o plasmas tratados con heparina de litio
- La bilirrubina (25 mg/ dL), triglicéridos (1000 mg/ dL) y la hemoglobina (250 mg/ dL) no interfieren en los resultados

6. CÁLCULOS

- ✓ Suero o plasma:

$$\frac{\Delta A \text{ Muestra}}{\Delta A \text{ Patrón}} \times [\text{Patrón}] = \text{mmol/L de potasio en la muestra}$$

7. VALORES DE REFERENCIA

- ❖ Suero o Plasma: 3,5 – 5,1 mmol/ L \cong 13,7 – 19,9 mg/ dL

8. MANEJO DE RESIDUOS

Debido a la Azida Sódica² presente en los reactivos de la práctica, los residuos no pueden desecharse en el drenaje, deberán colocarse en el contenedor de residuos etiquetado como D5-Potasio

4.1.3 CLORURO Tiocianato-Hg. Colorimétrico

1. INTRODUCCIÓN

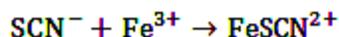
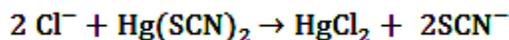
El ión cloruro (Cl^-) es el principal anión extracelular más importante y sirve para regular el equilibrio extracelular de distribución de líquidos.

La medición de la concentración de ión sodio en el plasma sirve para evaluar su metabolismo tanto en las enfermedades o situaciones que lo aumentan como la deshidratación, insuficiencia renal, ciertas formas de la acidosis, con el suministro de elevadas concentraciones en la alimentación o por vía parenteral y en la intoxicación por salicilatos; aunque se ha encontrado que la menstruación o ejercicio físico aumentan los valores plasmáticos mientras que la ingesta de cafeína o la menstruación también elevan los calores de cloruro en orina. También se evalúan las enfermedades o situaciones que lo disminuyen como deficiencias alimentarias, vómitos prolongados, reabsorción renal reducida así como a ciertas formas de la acidosis y la alcalosis; se ha encontrado que la ceguera o fiebre reducen sus valores plasmáticos y en orina.

2. OBJETIVOS

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Los iones cloruro reaccionan con tiocianato de mercurio desplazando el ión tiocianato. El tiocianato libre en presencia de iones férricos forma un complejo de color naranja-rojizo:



4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero o Plasma.
- Orina de 24 horas: Diluir 1/2 con agua destilada, mezclar y seguir la técnica. (Multiplicar el resultado por 2)

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Micropipeta de 1000 μL
- 1 Micropipeta de 50 μL
- 1 Piseta
- 2 Celdas de plástico de 3 mL
- 5 Tubos de vidrio de 13x100
- Puntas para micropipeta
- Gradilla
- Fotómetro con filtro de lectura de 480 nm
- Centrifuga

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Muestra problema
- Agua destilada
- Reactivo
- Calibrador
- Control Normal y/o Patológico de 1a o 3era opinión

4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

Reactivo - Tiocianato de Mercurio

- | | | | |
|--------------------------|------------|-----------------------|------------|
| • Tiocianato de mercurio | 4 mmol/ L | • Nitrato de Mercurio | 2 mmol/ L |
| • Nitrato de hierro | 40 mmol/ L | • Ácido nítrico | 45 mmol/ L |

Patrón primario de Cloruros (SPINREACT) \rightarrow 125 mmol/ L

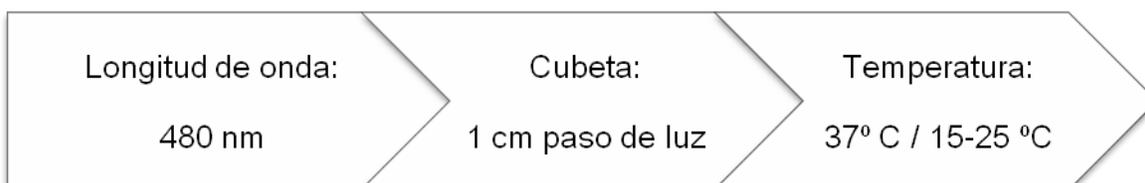
4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD

El reactivo de trabajo (RT) está listo para usarse y es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, mientras se encuentre en refrigeración (2-8°C)

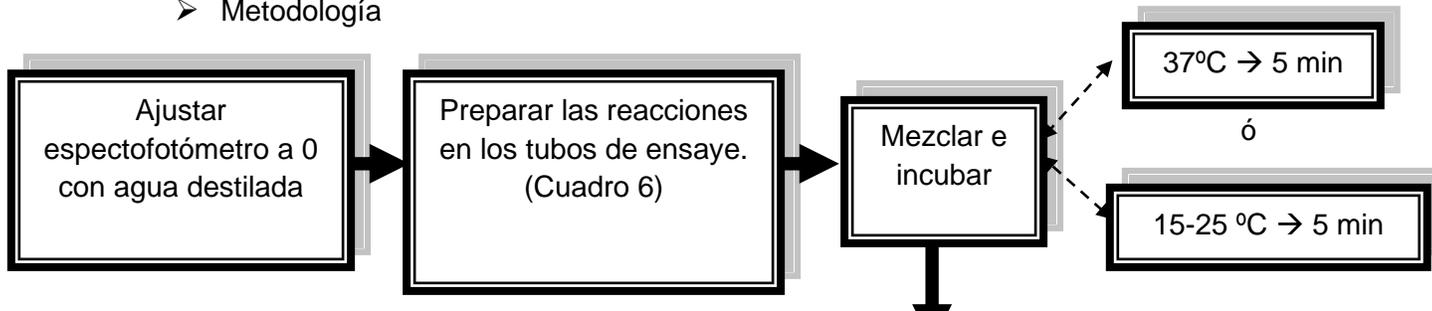
NOTA: La presencia de partículas y turbidez, así como absorbancias del blanco a 480nm mayores o iguales a 0,15 son indicadores del deterioro de los reactivos.

5. PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:



- Metodología



Cuadro 6

	Blanco	Patrón	Control	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0	1,0
Patrón (µL)	---	10	--	--
Control (µL)	--	--	10	--
Muestra (µL)	---	--	--	10

CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

- No emplear sueros o plasmas hemolizados.
- Separar lo antes posible de los hematíes.
- Sólo se puede usar la heparina como anticoagulante, ya que otros, como el oxalato o EDTA interfieren en los resultados
- Bilirrubina hasta 120 mg/ L, albúmina bovina hasta 150 g/ L y triglicéridos hasta 6 g/L no alteran significativamente los resultados.
- La orina debe recolectarse en recipientes libres de cloruros

6. CÁLCULOS

- ✓ Suero o plasma:

$$\frac{(A)Muestra - (A) Blanco}{(A) Patrón - (A) Blanco} \times [Patrón] = \text{mmol/L de iones cloruro en la muestra}$$

- ✓ Orina 24 h

$$\frac{(A)Muestra - (A) Blanco}{(A)Patrón - (A) Blanco} \times [Patrón] \times \text{vol orina/24 h} = \text{mmol/24h de iones cloruro}$$

- ✓ Factor de conversión: mmol/ L = mEq/ L

7. VALORES DE REFERENCIA

- ❖ Suero o Plasma: 95 – 115 mmol/ L
- ❖ Orina: 110 - 250 mmol/ 24h

8. MANEJO DE RESIDUOS

El Ácido nítrico, Ácido Sulfúrico, Tiocianato de Mercurio presentes en los reactivos están clasificados como H314 (Irritación o corrosión cutáneas-Categoría 1A) y H318 (Lesiones oculares graves o irritación ocular-Categoría 1) por el reglamento (UE) No. 1272/2008; por lo que se encuentran etiquetados con el siguiente pictograma de peligro:



GHS05 → Corrosión

Por lo que los residuos de dicha práctica deberán depositarse en el contenedor etiquetado como D6-cloruro y por ningún motivo en la tarja debido a su ecotoxicidad

4.1.4 DETERMINACIÓN DE SODIO, POTASIO Y CLORURO Ión Selectivo

La medición del ión sodio se lleva a cabo por potenciometría indirecta empleando un electrodo de membrana líquida de flujo continuo. Un electrodo selectivo de iones hace uso de las propiedades especiales de ciertas membranas para crear un potencial eléctrico que permite medir los iones en solución. El electrodo selectivo de sodio consiste en una membrana con portadores neutros selectivos para el sodio, que está en contacto con la solución analizada y con una solución interna. La solución interna contiene sodio en concentración conocida. Debido a las características especiales de la membrana cuando entra en contacto con la muestra a analizar, su selectividad hace que el sodio se fije a ambos lados de la misma generando un potencial eléctrico (fuerza electromotriz). La fuerza electromotriz se calcula como la diferencia entre la concentración del ión sodio en la solución analizada y en la solución interna. En las condiciones del análisis las muestras son previamente diluidas (1:31) por lo que, tanto la fuerza iónica como el coeficiente de actividad son esencialmente constantes lo que permite que se puede relacionar la fuerza electromotriz desarrollada con la concentración del ión en la muestra. La concentración del ión de la solución interna también es constante.

La medición del ión potasio se lleva a cabo por potenciometría indirecta empleando un electrodo de membrana líquida de flujo continuo. Un electrodo selectivo de iones hace uso de las propiedades especiales de ciertas membranas para crear un potencial eléctrico que permite medir los iones en solución. El electrodo selectivo de potasio consiste en una membrana selectiva de PVC (policloruro de vinilo) que contiene el antibiótico valinomicina que se une específicamente al ión potasio (portador neutral), que está en contacto con la solución analizada y con una solución interna. La solución interna contiene potasio en concentración conocida. Debido a las características especiales de la membrana cuando entra en contacto con la muestra a analizar, su selectividad hace que el potasio se fije a ambos lados de la misma generando un potencial eléctrico (fuerza electromotriz). La fuerza electromotriz se calcula como la diferencia entre la concentración del ión potasio en la solución analizada y en la solución interna. En las condiciones del análisis las muestras son previamente diluidas (1:31) por lo que, tanto la fuerza iónica como el coeficiente de actividad son esencialmente constantes lo que permite que se puede relacionar la fuerza electromotriz desarrollada con la concentración del ión en la muestra. La concentración del ión de la solución interna también es constante.

La medición del cloruro se lleva a cabo por potenciometría indirecta empleando un electrodo de membrana líquida de flujo continuo. Un electrodo selectivo de iones hace uso de las propiedades especiales de ciertas membranas para crear un potencial eléctrico que permite medir los iones en solución. El electrodo selectivo de cloruro consiste en una membrana selectiva, de intercambio iónico de PVC (policloruro de vinilo) (intercambiador de iones), que está en contacto con la solución analizada y con una solución interna. La solución interna contiene cloruro en concentración conocida. Debido a las características especiales de la membrana cuando entra en contacto con la muestra a analizar, su selectividad hace que el cloruro se fije a ambos lados de la misma generando un potencial eléctrico (fuerza electromotriz). La fuerza electromotriz se calcula como la diferencia entre

la concentración del ión cloro en la solución analizada y en la solución interna. En las condiciones del análisis las muestras son previamente diluidas (1:31) por lo que, tanto la fuerza iónica como el coeficiente de actividad son esencialmente constantes lo que permite que se puede relacionar la fuerza electromotriz desarrollada con la concentración del ión en la muestra. La concentración del ión de la solución interna también es constante.

4.2 GASOMETRÍA

En el metabolismo de un individuo se generan iones de hidrógeno, cuya concentración en plasma se mantiene entre unos límites estrechos en las personas sanas. Dichos iones se produce por la oxidación de los aminoácidos que contienen azufre de las proteínas que se ingieren con los alimentos, y estos iones son excretados eficazmente en la orina, por lo que la orina es notablemente ácida. En general, el balance entre producción y consumo de iones hidrógeno está equilibrado y no se altera su excreción global. Es probable que se genere mucho más ácido como dióxido de carbono, que en presencia de agua se hidrata y forma un ácido débil, el ácido carbónico. Se liberan grandes cantidades de CO_2 por la actividad celular cada día, con el riesgo de alterar el equilibrio ácido-básico, pero en circunstancias normales todo este CO_2 se elimina a través de los pulmones después de haber sido transportado por la sangre.

Los mecanismos homeostáticos de los iones de hidrógeno y de dióxido de carbono son muy eficientes por lo que los desequilibrios temporales se absorben por amortiguación mediante sustancias que actúan como tampones, y como resultado de esto la concentración de iones de hidrógeno del organismo se mantiene dentro de límites.

El sistema de amortiguación del bicarbonato es el más importante y su capacidad aumenta mucho en el organismo porque a partir del dióxido de carbono se puede formar inmediatamente ácido carbónico o bien se puede eliminar por conversión en dióxido de carbono y agua. El bicarbonato debe regenerarse con el fin de mantener la capacidad del sistema amortiguador, pero cuando se forma bicarbonato a partir del ácido carbónico (indirectamente del dióxido de carbono y el agua), simultáneamente se forman cantidades equimolares de iones de hidrógeno. La formación de bicarbonato sólo puede seguir adelante si se eliminan estos iones de hidrógeno. Este proceso tiene lugar en las células de los túbulos renales, donde se segregan a la orina los iones de hidrógeno y donde se genera el bicarbonato y se reabsorbe de nuevo hacia el organismo, si no se reabsorbiera, se expulsarían enormes cantidades por la orina, disminuyendo la capacidad de amortiguación del organismo y causando acidosis o alcalosis.

Es habitual medir el pH en sangre arterial anticoagulada con heparina y es vital que se elimine el aire de la jeringuilla, tanto antes como después de extraer la sangre, y que, si es posible, se realice el análisis inmediatamente. Si hay que transportar la muestra de sangre, la jeringuilla, cubierta por un capuchón ciego y dentro de una bolsa de plástico, se mantendrá en agua con hielo. El análisis mide la concentración de iones hidrógeno en la sangre (pH), la presión parcial de dióxido de carbono (PCO_2) y la presión parcial de oxígeno (PO_2) empleando electrodos especiales; el conjunto de estas mediciones se conoce como gasometría

4.2.1 GASÓMETRO

4.3 CUESTIONARIO

1. ¿Qué aparatos y/o Sistemas intervienen en la regulación del equilibrio electrolítico?
2. ¿Cuál es el síntoma que indica la existencia de una deficiencia hídrica en el organismo?
3. ¿Cuáles son los Electrolitos más importantes en el organismo?
4. ¿Cuáles son las patologías que se asocian en un desequilibrio electrolítico?
5. ¿Qué desequilibrios electrolíticos se asocian a la hipertensión?
6. ¿Qué pruebas de laboratorio se utilizan para valorar el equilibrio electrolítico y cuáles son sus valores de referencia?
7. ¿Qué pruebas de laboratorio se utilizan para valorar el equilibrio ácido - base y cuáles son sus valores de referencia?

UNIDAD V

METABOLISMO ÓSEO Y MINERAL

5.1 INTRODUCCIÓN

5.2 CALCIO

o-Cresolftaleína. Colorimétrico

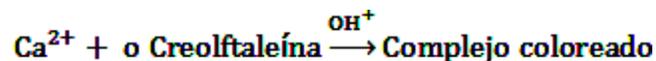
1. INTRODUCCIÓN

2. OBJETIVOS

- Determinar la concentración de calcio en una muestra biológica mediante el método analítico colorimétrico cresolftaleína.
- Conocer la importancia del calcio en el metabolismo humano y su relación con diversas patologías.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La medición del calcio se basa en la formación de un complejo de color magenta-violeta entre el calcio y la o-cresolftaleína en medio alcalino.



4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero o Plasma sin anticoagulante.
- Orina de 24 hora con 10 mL ácido nítrico al 50% precio a recolectarla: Diluir 1/2 con agua destilada, mezclar seguir procedimiento. (Multiplicar el resultado por 2)

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Micropipeta de 1000 μL
- 1 Micropipeta de 50 μL
- 1 Piseta
- 2 Celdas de plástico de 3 mL

- 5 Tubos de vidrio de 13x100
- Puntas para micropipeta
- Gradilla

- Fotómetro con filtro de lectura de 570 nm
- Centrífuga

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Muestra problema
- Agua destilada
- Reactivo 1- Tampón
- Reactivo 2- Cromógeno

- Calibrador
- Control Normal y/o Patológico de 1a o 3era opinión

4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

Reactivo 1- Tampón

- Etanolamina 500 mmol/ L

Reactivo 2- Cromógeno

- O-cresoltaleína 0,62 mmol/ L
- 8-Hidroxiquinoleína 69 mmol/ L

Patrón primario de Calcio (SPINREACT) → 10 mg/ dL

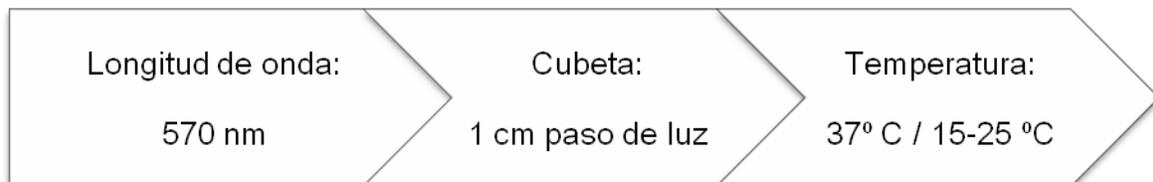
4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD

El reactivo de trabajo (RT) está listo para usarse y es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, mientras se encuentre en refrigeración (2-8°C)

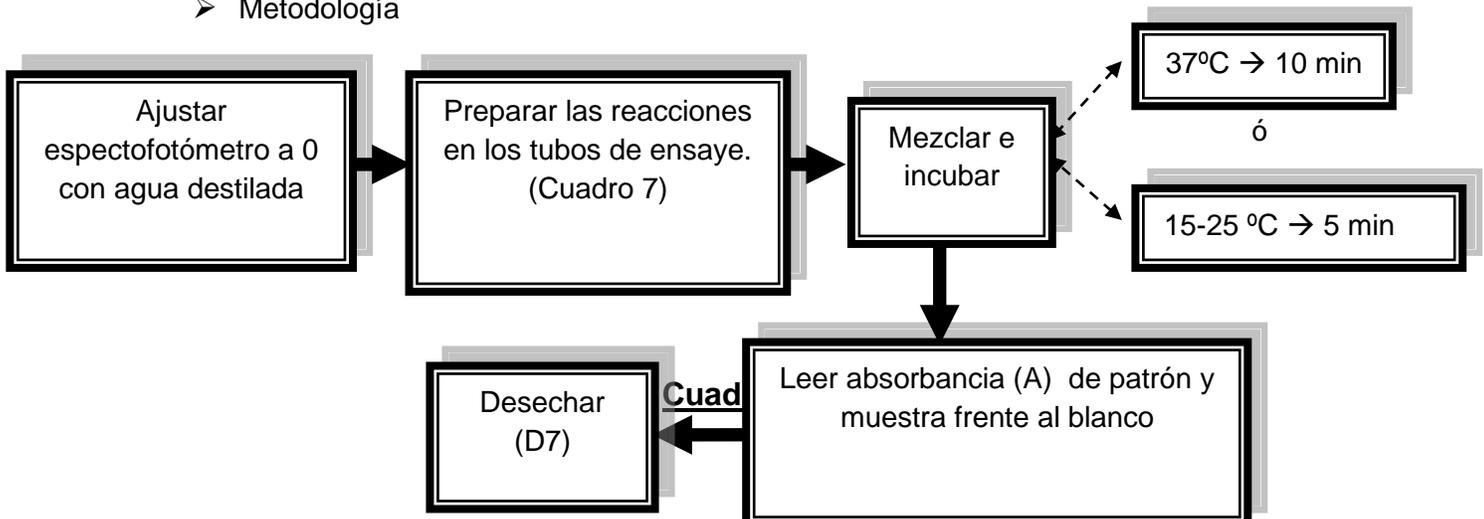
NOTA: La presencia de partículas y turbidez, así como absorbancias del blanco a 570nm mayores o iguales a 0,2 son indicadores del deterioro de los reactivos

5. PROCEDIMIENTO

➤ Condiciones del ensayo:



➤ Metodología



	Blanco	Patrón	Control	Muestra
R1 (mL)	2,0	2,0	2,0	2,0
R2 (gotas)	1	1	1	1
Patrón (μL)	---	20	--	--
Control (μL)	--	--	20	--
Muestra (μL)	---	--	--	20

CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

- Color estable por máximo 40 minutos
- El suero debe separarse lo antes posible de los hematíes.
- La muestra debe recolectarse en tubo tapón rojo
- No usar oxalato o EDTA como anticoagulantes ya que interfieren en la determinación del calcio
- La muestra debe recolectarse en ayuno, por lo menos de 8 horas previas a la toma.
- Los triglicéridos $\leq 1,25$ g/L no interfieren con los resultados

6. CÁLCULOS

- ✓ Suero o plasma:

$$\frac{(A)Muestra - (A)Blanco}{(A)Patrón - (A)Blanco} \times [Patrón] = \text{mg/L de calcio en la muestra}$$

- ✓ Orina de 24 h

$$\frac{(A)Muestra - (A)Blanco}{(A)Patrón - (A)Blanco} \times [Patrón] \times \text{vol orina} / 24 \text{ h} = \text{mg/24h de calcio}$$

- ✓ Factor de conversión: mg/dL x 0,25 = mmol/ L

7. VALORES DE REFERENCIA

❖ Suero o Plasma

- Adultos: 8,5 - 10,5 mg/ dL \cong 2,1 - 2,6 mmol/ L
- Niños: 10 - 12 mg/ dL \cong 2,5 - 3 mmol/ L
- Recién nacidos: 8 - 13 mg/ dL \cong 2 - 3,25 mmol/ L

❖ Orina:

- Adultos: 50 - 300 mg/ 24h \cong 1,25 - 7,5 mmol/ 24h
- Niños: 80 - 160 mg/ 24h \cong 2 - 4 mmol/ 24h

8. MANEJO DE RESIDUOS

El Ácido clorhídrico, Quinolin-8-ol y Alcohol isopropílico presentes en el reactivo 2 están clasificados como H314 (Irritación o corrosión cutáneas-Categoría 1A), H318 (Lesiones oculares graves o irritación ocular-Categoría 1) y H290 (Corrosivos para los metales- Categoría 1) por el reglamento (UE) No. 1272/2008; por lo que se encuentran etiquetados con el siguiente pictograma de peligro:



GHS05 → Corrosión

Por lo que los residuos de dicha práctica deberán depositarse en el contenedor etiquetado como D7-Cacio, y por ningún motivo en la tarja debido a su ecotoxicidad.

5.3 FÓSFORO Fosfomolibdato. UV

1. INTRODUCCIÓN

2. OBJETIVOS

- Determinar la concentración de fósforo en una muestra biológica mediante el método analítico fosfomolibdato UV.
- Conocer la importancia del fósforo en el metabolismo humano y su relación con diversas patologías

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Este es un método directo para determinar fósforo inorgánico, el cual reacciona en medio ácido con molibdato amónico formando un complejo fosfomolibdico de color amarillo.

Molibdato amónico + Ácido Sulfúrico → Complejo fosfomolibdato

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero o Plasma
- Orina de 24 hora con 10 mL ácido clorhídrico al 10% preciso a recolectarla: Diluir 1/10 con agua destilada, mezclar seguir procedimiento. (Multiplicar el resultado por 10)

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Micropipeta de 1000 μ L
- 1 Micropipeta de 50 μ L
- 1 Piseta
- 2 Celdas de plástico de 3 mL
- 5 Tubos de vidrio de 13x100
- Puntas para micropipeta
- Gradilla
- Fotómetro con filtro de lectura de 340 nm
- Centrífuga

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Muestra problema
- Agua destilada
- Reactivo de Trabajo
- Calibrador
- Control Normal y/o Patológico de 1a o 3era opinión

4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

Reactivo de Trabajo: Molibdico

- Molibdato amónico 0,40 mM
- Ácido Sulfúrico 210 mM
- Detergente

Patrón primario de Fósforo (SPINREACT) → 5 mg/ dL

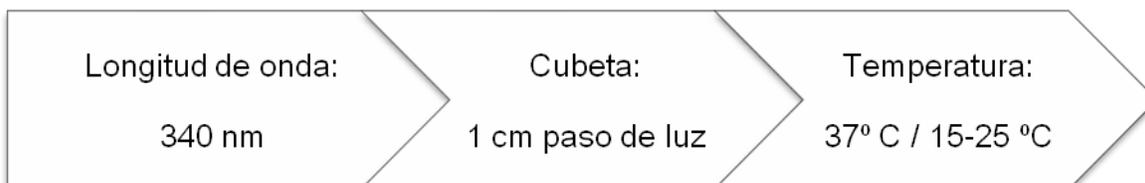
4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD

El reactivo de trabajo (RT) está listo para usarse y es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, mientras se encuentre en refrigeración (2-8°C)

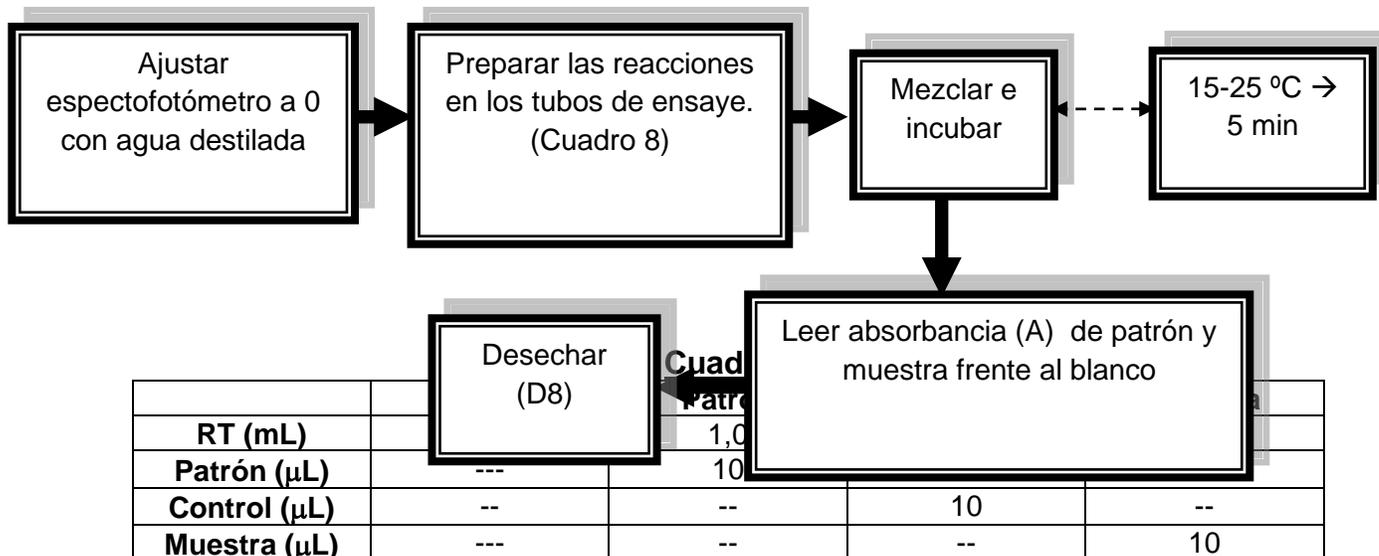
NOTA: La presencia de partículas y turbidez, así como absorbancias del blanco a 340nm mayores o iguales a 0,54 son indicadores del deterioro de los reactivos

5. PROCEDIMIENTO

➤ Condiciones del ensayo:



➤ Metodología



CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

-El suero debe estar libre de hemólisis y separarse lo antes posible de los eritrocitos con el fin de evitar la liberación de los esteres de fósforo orgánico, que son hidrolizados a fósforo inorgánico durante su conservación.

-La adición del ácido clorhídrico a la orina es muy importante, porque así se evita la precipitación de fosfatos.

6. CÁLCULOS

✓ Suero o plasma:

$$\frac{(A)Muestra - (A)Blanco}{(A)Patrón - (A)Blanco} \times [Patrón] = \text{mg/L de fósforo en la muestra}$$

✓ Orina de 24 h
$$\frac{(A)\text{Muestra} - (A)\text{Blanco}}{(A)\text{Patrón} - (A)\text{Blanco}} \times [\text{Patrón}] \times \text{vol orina}/24 \text{ h} = \text{mg}/24\text{h de fósforo}$$

✓ Factor de conversión: $\text{mg}/\text{dL} \times 0,323 = \text{mmol}/\text{L}$

7. VALORES DE REFERENCIA

❖ Suero o Plasma

- Adultos: 2,5 – 5,0 mg/ dL \cong 0,80 – 1,61 mmol/ L
- Niños: 4,0 – 7,0 mg/ dL \cong 1,29 – 2,26 mmol/ L

❖ Orina:

- Adultos: 0,4 – 1,3 g/ 24h

8. MANEJO DE RESIDUOS

El Ácido Sulfúrico y el Tritón X-100 presentes en el reactivo están clasificados como H314 (Irritación o corrosión cutáneas-Categoría 1A) y H318 (Lesiones oculares graves o irritación ocular-Categoría 1) por el reglamento (UE) No. 1272/2008; por lo que se encuentran etiquetados con el siguiente pictograma de peligro:



GHS05 → Corrosión

Por lo que los residuos de dicha práctica deberán depositarse en el contenedor etiquetado como D8-Fósforo, y por ningún motivo en la tarja debido a su ecotoxicidad.

5.4 MAGNESIO Azul de Xilidil. Colorimétrico

1. INTRODUCCIÓN

2. OBJETIVOS

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El magnesio forma un complejo coloreado al reaccionar con Magon sulfonado en solución alcalina

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero o Plasma heparinizado
- Orina de 24 horas ajustada a pH 1 con ClH: Diluir 1/10 con agua destilada, mezclar seguir procedimiento. (Multiplicar el resultado por 10)

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Micropipeta de 1000 μL
- 1 Micropipeta de 50 μL
- 1 Piseta
- 2 Celdas de plástico de 3 mL
- 5 Tubos de vidrio de 13x100
- Puntas para micropipeta
- Gradilla
- Fotómetro con filtro de lectura de 546 nm
- Centrífuga

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Muestra problema
- Agua destilada
- Reactivo de Trabajo
- Calibrador
- Control Normal y/o Patológico de 1a o 3era opinión

4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

Reactivo de Trabajo

- Azul de Xilidil 0,1 mmol/ L
- DMSO 3000 mmol/ L
- Ácido Tioglicólico 0,7 mmol/ L

Patrón primario de Magnesio(SPINREACT) → 2 mg/ dL

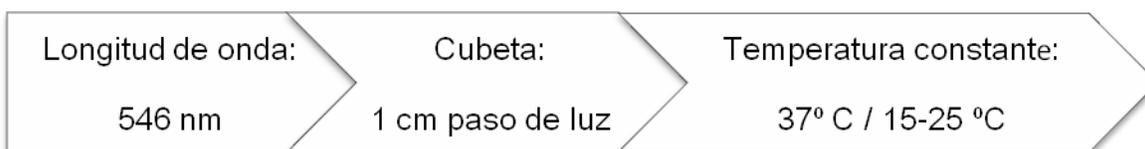
4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD

El reactivo de trabajo (RT) está listo para usarse y es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, mientras se encuentre en refrigeración (2-8°C)

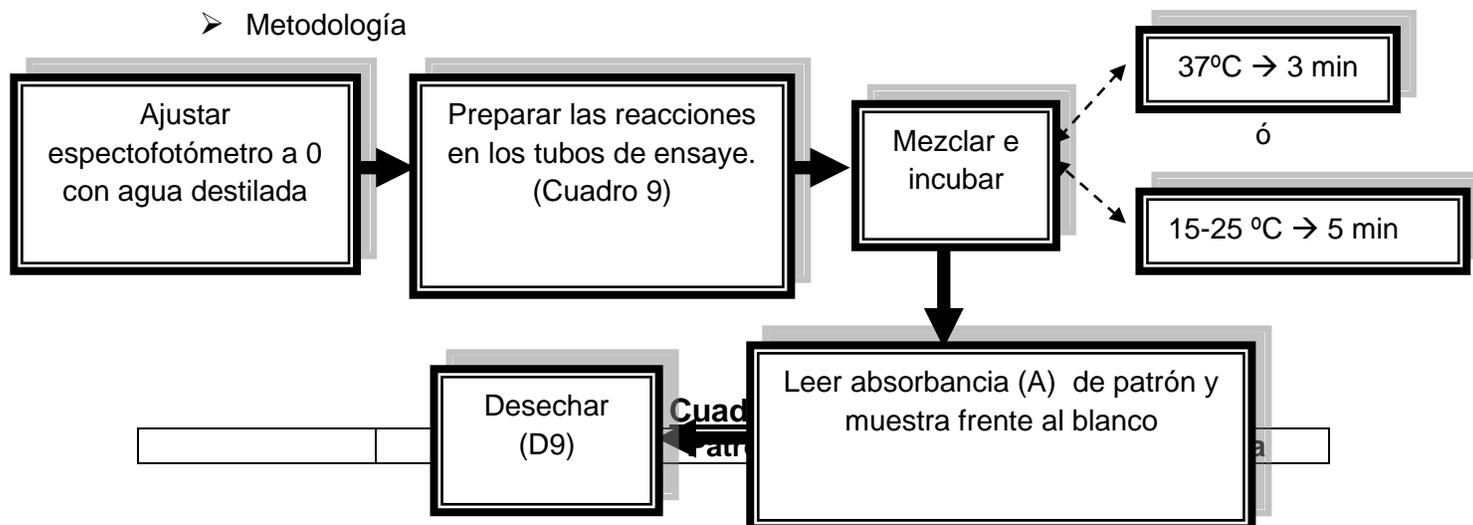
NOTA: La presencia de partículas y turbidez, así como absorbancias del blanco a 546nm mayores o iguales a 1,8 son indicadores del deterioro de los reactivos

5. PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:



- Metodología



RT (mL)	1,0	1,0	1,0	1,0
Patrón (µL)	---	10	--	--
Control (µL)	--	--	10	--
Muestra (µL)	---	--	--	10

CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

- Color estable por máximo 30 min.
- Los anticoagulantes a excepción de la heparina interfieren en el ensayo.
- El suero debe estar libre de hemólisis y separarse lo antes posible de los eritrocitos
- Si la orina está turbia calentar a 60 °C por 10 min para disolver los precipitados.

6. CÁLCULOS

✓ Suero o plasma:

$$\frac{(A)Muestra - (A)Blanco}{(A)Calibrador - (A) Blanco} \times [Patrón] = \text{mg/dL de magnesio en la muestra}$$

✓ Orina de 24 h

$$\frac{(A)Muestra - (A) Blanco}{(A)Patrón - (A) Blanco} \times [Patrón] \times \text{vol orina/24 h} = \text{mg/24h de magnesio}$$

✓ Factor de conversión:

- mg/dL x 0,412 = mmol/ L
- 0,5 mmol/ L = 1,0 mEq/ L = 1,22 mg/ dL = 12,2 mg/ L

7. VALORES DE REFERENCIA

❖ Suero o Plasma

- 1,6 – 2,5 mg/ dL \cong 0,66 – 1,03 mmol/ L

❖ Orina:

- 24 – 244 mg/ 24 horas \cong 2 – 21 mEq/ L/ 24 horas

8. MANEJO DE RESIDUOS

El Tritón X-100 presente en el reactivo está clasificados como H314 (Irritación o corrosión cutáneas-Categoría 1A) y H318 (Lesiones oculares graves o irritación ocular-Categoría 1) por el reglamento (UE) No. 1272/2008; por lo que se encuentran etiquetados con el siguiente pictograma de peligro:



GHS05 → Corrosión

Por lo que los residuos de dicha práctica deberán depositarse en el contenedor etiquetado como D9-Magnesio, y por ningún motivo en la tarja debido a su ecotoxicidad.

UNIDAD VI

METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS Y LÍPIDOS

6.1 INTRODUCCIÓN

6.2 NOM 015-SSA2-2010 PARA LA PREVENCIÓN, TRATAMIENTO Y CONTROL DE LA DIABETES MELITUS

Disponible en http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5168074&fecha=23/11/2010

6.3 NOM-047-SSA2-2012 PARA LA PREVENCIÓN, TRATAMIENTO Y CONTROL DE LAS DISLIPIDEMIAS

Disponible en http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5259329&fecha=13/07/2012

6.4 GLUCOSA GOD-POD. Líquido

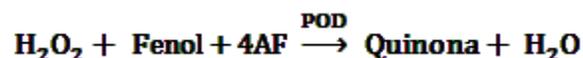
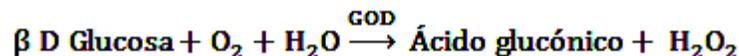
1. INTRODUCCIÓN

2. OBJETIVOS

- Destacar la importancia de la glucosa en el metabolismo humano y su relación con diversas patologías.
- Determinar la concentración de glucosa en estado basal y posprandial en una muestra biológica mediante el método enzimático colorimétrico.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La enzima glucosa oxidasa (GOD) cataliza la oxidación de glucosa a ácido glucónico y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno (H_2O_2), producido se detecta mediante un aceptor cromogénico de oxígeno, fenol-4-aminofenazona (4-AF) en presencia de peroxidasa (POD). La determinación de glucosa se efectúa mediante el método de Trinder según las siguientes reacciones



4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero o Plasma

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Micropipeta de 1000 μL
- 1 Micropipeta de 50 μL

- 1 Piseta
- 2 Celdas de plástico de 3 mL
- 4 Tubos de vidrio de 13x100
- Puntas para micropipeta
- Gradilla

- Fotómetro con filtro de lectura de 505 nm
- Centrífuga

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Muestra problema
- Agua destilada
- Reactivo de Trabajo (RT) Calibrador

- Control Normal y/o Patológico de 1a o 3era opinión

4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

Reactivo de Trabajo

- | | | | |
|-------------------------|-------------|--------------------------|-------------|
| • TRIS pH 7,4 | 92 mmol/ L | • Peroxidasa (POD) | 1000 U/ L |
| • Fenol | 0,3 mmol/ L | • 4-Aminofenazona (4-AF) | 2,6 mmol/ L |
| • Glucosa oxidasa (GOD) | 15000 U/ L | | |

Patrón primario de Glucosa (SPINREACT) → 100 mg/ dL

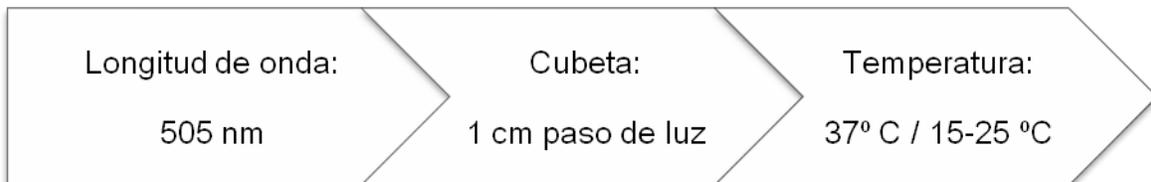
4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD

El reactivo de trabajo (RT) está listo para usarse y es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, mientras se encuentre en refrigeración (2-8°C)

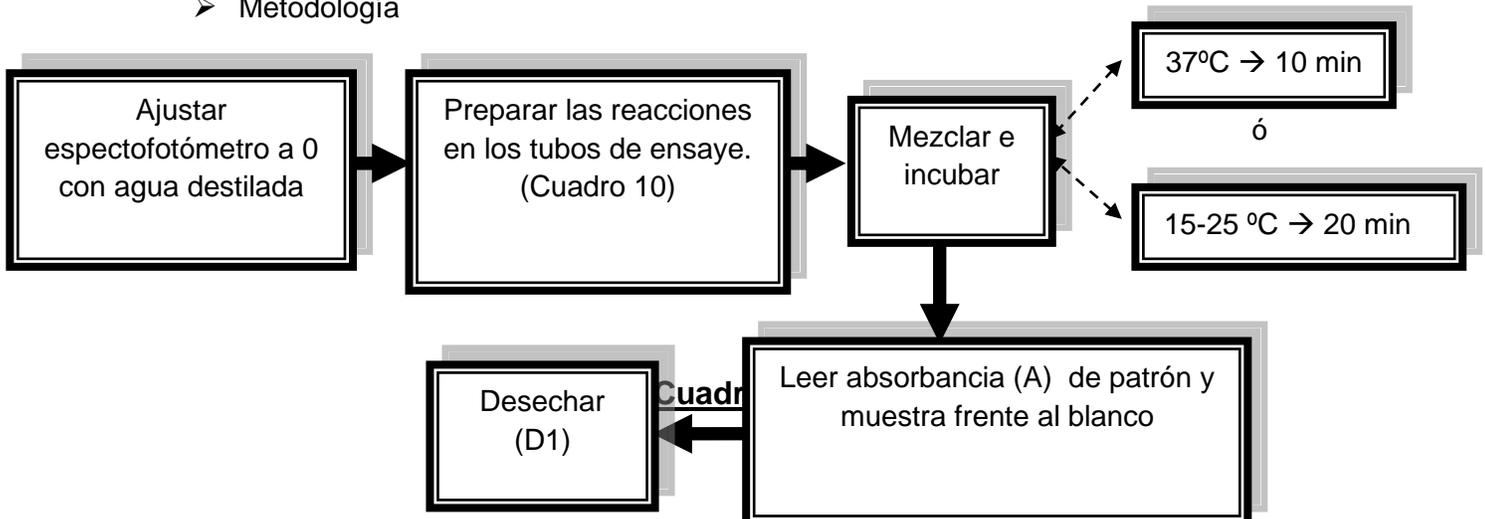
NOTA: La presencia de partículas y turbidez, así como absorbancias del blanco a 505nm mayores o iguales a 0,32 son indicadores del deterioro de los reactivos

5. PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:



- Metodología



	Blanco	Patrón	Control	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0	1,0
Patrón (µL)	---	10	--	--
Control (µL)	--	--	10	--
Muestra (µL)	---	--	--	10

CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

- Color estable por máximo 30 minutos
- El suero debe separarse lo antes posible del coagulo
- La muestra debe recolectarse en ayuno, por lo menos de 8 horas previas a la toma.
- La muestra debe recolectarse en tubo de tapón rojo para suero ya que no contiene anticoagulante, o en caso de ser plasma el tubo de color lila que contiene EDTA.
- La hemolisis (hasta 19 g/ dL de hemoglobina), la bilirrubina hasta 100 mg/ L no interfieren con los resultados

6. CÁLCULOS

- ✓ Suero o plasma:

$$\frac{(A)Muestra - (A)Blanco}{(A)Patrón - (A)Blanco} \times [Patrón] = \text{mg/L de glucosa en la muestra}$$

- ✓ Factor de conversión: mg/dL x 0,0555 = mmol/ L

7. VALORES DE REFERENCIA

- ❖ Suero o Plasma: 60 - 110 mg/ dL \cong 3,33 – 6,10 mmol/ L

8. MANEJO DE RESIDUOS

Debido a la Azida Sódica presente en los reactivos de la práctica, los residuos no pueden desecharse en el drenaje, deberán colocarse en el contenedor de residuos etiquetado como D1-Ácido úrico, glucosa, colesterol y triglicéridos

6.5 COLESTEROL TOTAL CHOD-POD. Enzimático colorimétrico

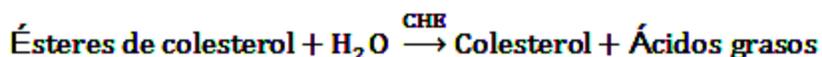
1. INTRODUCCIÓN

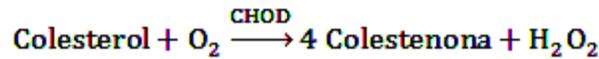
2. OBJETIVOS

- Explicar la importancia del colesterol en el metabolismo humano y su relación con diversas patologías.
- Determinar la concentración de colesterol en una muestra biológica mediante el método enzimático colorimétrico

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La colesterol esterasa hidroliza los ésteres de colesterol presentes en la muestra dando colesterol libre y ácidos grasos, en una posterior oxidación enzimática mediante la colesteol oxidasa se forma H₂O₂ y colesterona. El H₂O₂ se valora por la reacción Trinder, mediante un cromógeno, fenol y 4-aminoantipirina, en presencia de peroxidasa, formando una quinonimina cuya coloración rosácea es proporcional a la concentración de colesterol.





4. DESARROLLO EXPERIMENTAL¹

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero o Plasma

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Micropipeta de 1000 µL
- 1 Micropipeta de 50 µL
- 1 Piseta
- 2 Celdas de plástico de 3 mL
- 5 Tubos de vidrio de 13x100
- Puntas para micropipeta
- Gradilla
- Fotómetro con filtro de lectura de 505 nm
- Centrífuga

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Muestra problema
- Agua destilada
- Reactivo 1-Tampón
- Reactivo 2- Enzimas
- Calibrador
- Control Normal y/o Patológico de 1a o 3era opinión

4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

Reactivo 1- Tampón

- PIPES pH 6,9 90 mmol/ L
- Fenol 26 mmol/ L

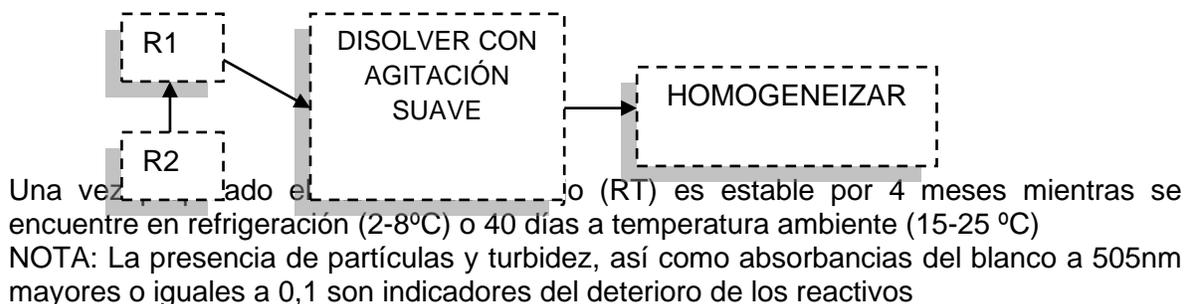
Reactivo 2- Enzimas

- Colesterol esterasa (CHE) 300 U/ L
- Colesterol oxidasa (CHOD) 300 U/ L
- Peroxidasa (POD) 1250 U/ L
- 4-Aminofenazona (4-AF) 0,4 mmol/ L

Patrón primario de Colesterol (SPINREACT) → 200 mg/ dL

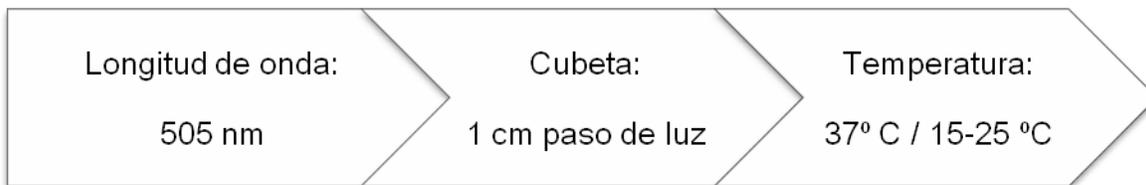
Contiene Triton X-114 en un 10-15%

4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD

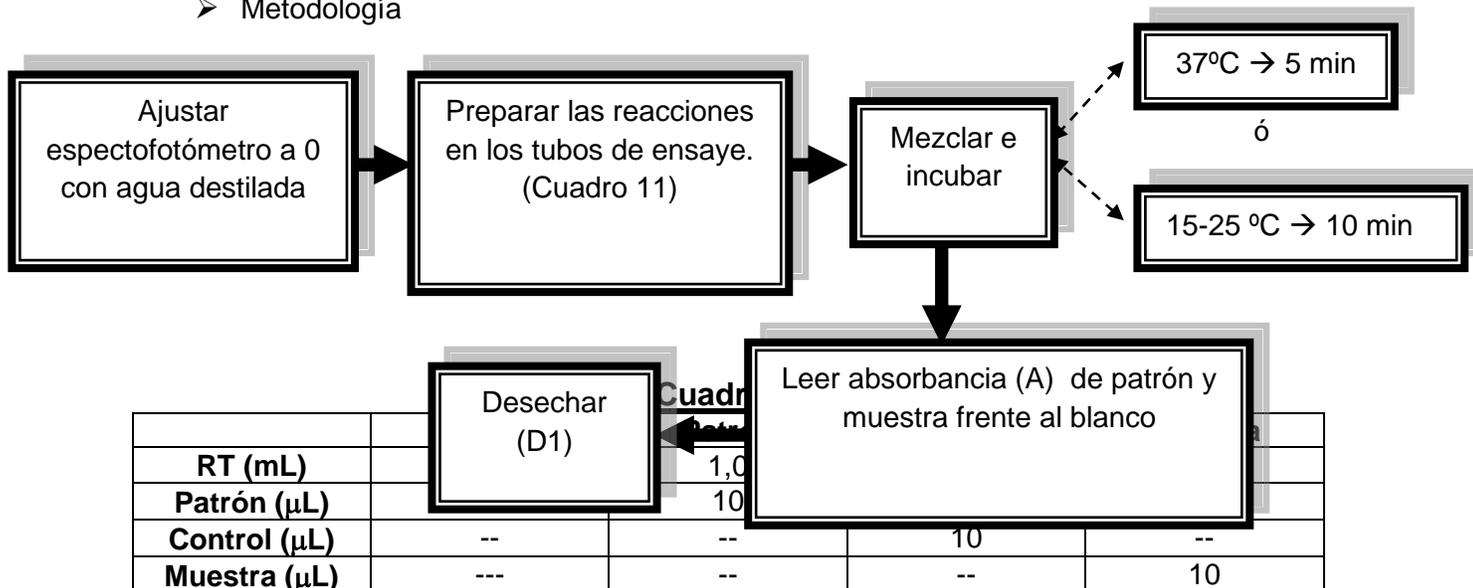


5. PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:



➤ Metodología



CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

- Color estable por máximo 60 minutos
- La hemolisis (hasta 5 g/ dL de hemoglobina), la bilirrubina hasta 10 mg/L no interfieren con los resultados
- el paciente debe encontrarse en un estado fisiológico regular (sin ejercicio vigoroso) y bajo si dieta ordinaria del día anterior
- La muestra debe recolectarse en ayuno total, durante un lapso de 12 a 14 previas a la toma

6. CÁLCULOS

✓ Suero o plasma:

$$\frac{(A)Muestra - (A)Blanco}{(A)Patrón - (A)Blanco} \times [Patrón] = \text{mg/L de colesterol en la muestra}$$

✓ Factor de conversión: mg/dL x 0,0258 = mmol/ L

7. VALORES DE REFERENCIA

- ❖ Menos de 200 mg/ dL.....Normal
- ❖ 200 -239 mg/gL.....Moderado
- ❖ ≥ 240 mg/ dL.....Alto

8. MANEJO DE RESIDUOS

Debido a la Azida Sódica presente en los reactivos de la práctica, los residuos no pueden desecharse en el drenaje, deberán colocarse en el contenedor de residuos etiquetado como D1-Ácido úrico, glucosa, colesterol y triglicéridos

6.6 TRIGLICÉRIDOS GPO-POD. Enzimático colorimétrico

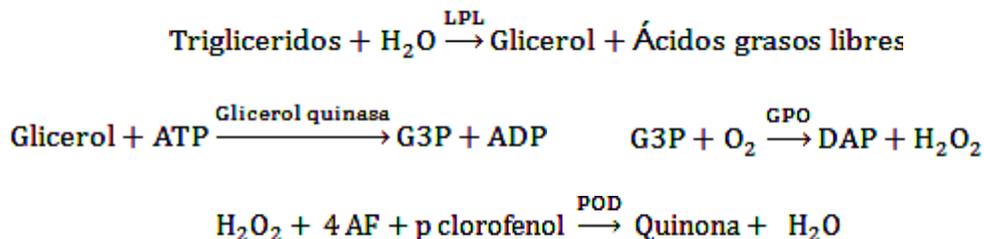
1. INTRODUCCIÓN

2. OBJETIVOS

- Realizar la determinación de triglicéridos séricos en una muestra biológica con un método enzimático.
- Destacar la importancia de los triglicéridos en el metabolismo humano y su relación con diversas patologías.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Los triglicéridos incubados con lipoproteinlipasa (LPL) liberan glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por glicerolfosfato deshidrogenasa (GPO) y ATP en presencia de glicerol quinasa (GK) para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina-5-difosfato (ADP). El G3P es entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) por GPO. Al final el peróxido de hidrógeno reacciona con 4-aminofenazona (AF) y p-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa (POD) dando una coloración roja.



4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero o Plasma heparinizado o con EDTA

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Micropipeta de 1000 µL
- 1 Micropipeta de 50 µL
- 1 Piseta
- 2 Celdas de plástico de 3 mL
- 5 Tubos de vidrio de 13x100
- Puntas para micropipeta
- Gradilla
- Fotómetro con filtro de lectura de 505 nm
- Centrífuga

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Muestra problema
- Agua destilada
- Reactivo 1-Tampón
- Reactivo 2- Enzimas
- Calibrador

- Control Normal y/o Patológico de 1a o

3era opinión

4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

Reactivo 1- Tampón

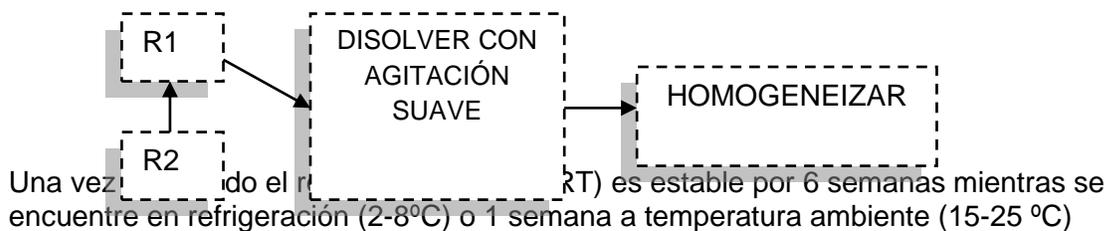
- GOOG pH 7,5 50 mmol/ L
- p-clorofenol 2 mmol/ L

Reactivo 2- Enzimas

- Lipoprotein Lipasa (LPL) 150000 U/ L
- Glicerol quinasa (GK) 500 U/ L
- Peroxidasa (POD) 440 U/ L
- Glicerol-3-oxidasa (GPO) 2500 U/ L
- 4-Aminofenazona (4-AF) 0,1 mmol/ L
- ATP 0,1 mmol/ L

Patrón primario de Triglicéridos (SPINREACT) → 200 mg/ dL

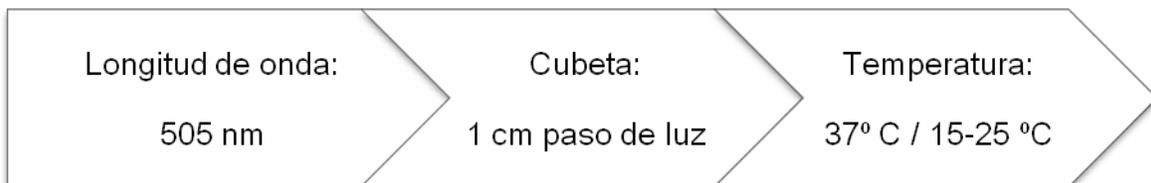
4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD



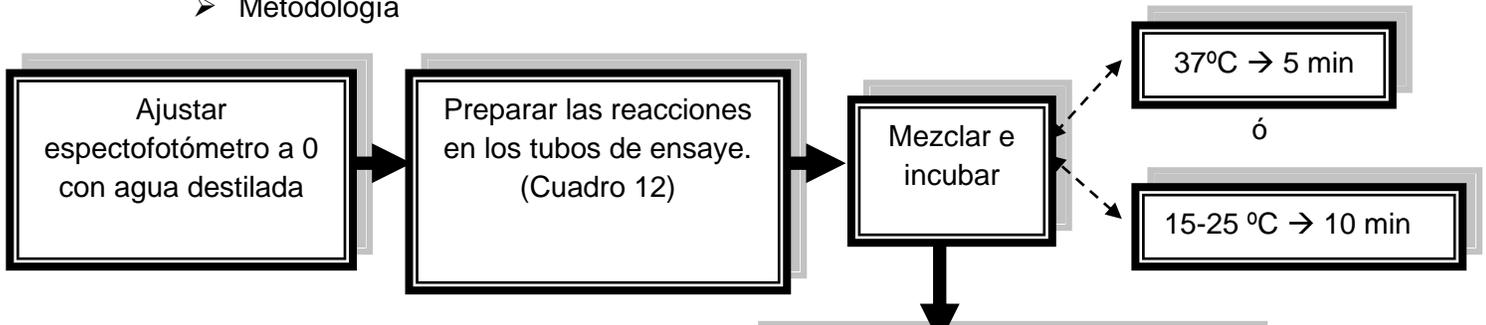
NOTA: La presencia de partículas y turbidez, así como absorbancias del blanco a 505nm mayores o iguales a 0,14 son indicadores del deterioro de los reactivos

5. PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:



- Metodología



Leer absorbancia (A) de patrón y muestra frente al blanco

	Desechar (D1)			
RT (mL)		1,0		
Patrón (µL)		10		
Control (µL)	--	--	10	--
Muestra (µL)	---	--	--	10

CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

- Color estable por máximo 30 minutos
- La hemolisis (hasta 10 g/ dL de hemoglobina), la bilirrubina hasta 170 µmol/L no interfieren con los resultados
- El paciente debe encontrarse en un estado fisiológico regular (sin ejercicio vigoroso) y bajo si dieta ordinaria del día anterior
- La muestra debe recolectarse en ayuno total, durante un lapso de 12 a 14 previas a la toma

6. CÁLCULOS

- ✓ Suero o plasma:

$$\frac{(A)Muestra - (A)Blanco}{(A)Patrón - (A) Blanco} \times [Patrón] = \text{mg/L de triglicéridos en la muestra}$$

- ✓ Factor de conversión: mg/dL x 0,0113 = mmol/ L

7. VALORES DE REFERENCIA

- ❖ Hombres: 40 - 160 mg/ dL
- ❖ Mujeres: 35 - 135 mg/ dL

8. MANEJO DE RESIDUOS

Debido a la Azida Sódica presente en los reactivos de la práctica, los residuos no pueden desecharse en el drenaje, deberán colocarse en el contenedor de residuos etiquetado como D1-Ácido úrico, glucosa, colesterol y triglicéridos

6.7 CUESTIONARIO

1. ¿Qué órganos intervienen en el metabolismo de los carbohidratos?
2. ¿Cuáles son las patologías que se asocian en el metabolismo de carbohidratos?
3. ¿Qué pruebas de laboratorio se utilizan para valorar el metabolismo de carbohidratos y sus valores de referencia?
4. ¿Qué órganos intervienen en el metabolismo de los lípidos?
5. ¿Cuáles son las patologías que se asocian en el metabolismo de lípidos?
6. ¿Qué pruebas de laboratorio se utilizan para valorar el metabolismo de lípidos y sus valores de referencia?

UNIDAD VII

PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO HEPÁTICO

7.1 INTRODUCCIÓN

7.1.1 BILIRRUBINA TOTAL Y DIRECTA DMSO. Colorimétrico

1. INTRODUCCIÓN

2. OBJETIVOS

- Demostrar el manejo adecuado de la técnica para la determinación de bilirrubina en una muestra biológica.

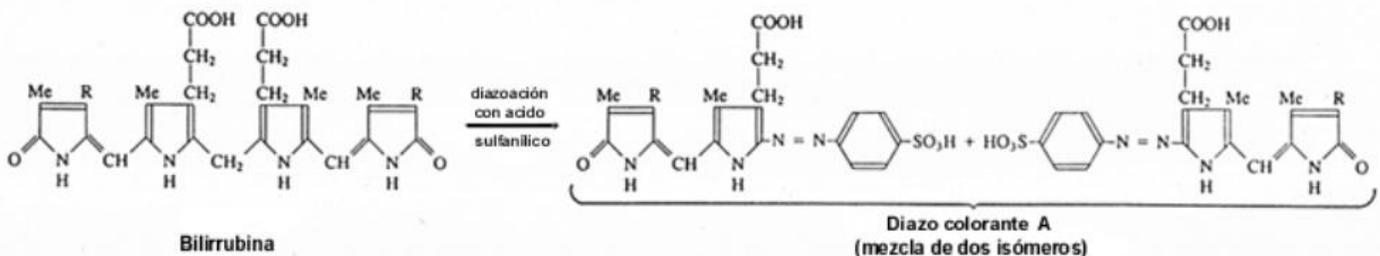
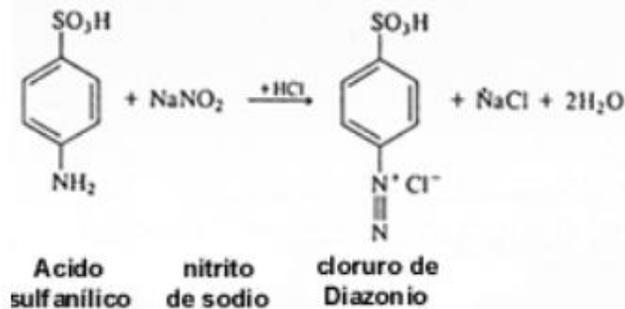
- Establecer los valores de referencia de la bilirrubina total y directa y comparar con el valor de nuestra muestra problema a analizar.
- Definir cuáles son las principales patologías que se presentan si tenemos valores altos o bajos de bilirrubina en una muestra biológica

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Casi todas las técnicas de cuantificación de la bilirrubina se basan en la reacción de Malloy-Evelyn, que se valora por la formación de azobilirrubina, pigmento de color rojo-violáceo, que de forma a partir de la reacción específica entre la bilirrubina y el ácido sulfanílico diazotado

De las dos fracciones presentes en suero, bilirrubin-glucurónido y bilirrubina libre ligada a la albúmina, sólo la bilirrubin-glucurónido- que es altamente polar- reacciona en medio acuoso con el reactivo de diazotación. Debido a que al poner en contacto el suero con el reactivo, aparecía directamente el color, se le denominó bilirrubina directa. Sin embargo, la bilirrubina libre, que es poco polar, requiere de la solubilización con dimetilsulfóxido (DMSO) para que reaccione y produzca color, por lo que se le denominó bilirrubina indirecta.

En la determinación de la bilirrubina indirecta se determina también la directa, correspondiendo el resultado a la bilirrubina total. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de bilirrubina presente en la muestra ensayada.



4. DESARROLLO EXPERIMENTAL¹

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero o Plasma sin hemólisis

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Micropipeta de 1000 μL
- 1 Micropipeta de 200 μL
- 1 Micropipeta de 50 μL
- 1 Piseta
- 2 Celdas de plástico de 3 mL
- 5 Tubos de vidrio de 13x100
- Puntas para micropipeta
- Gradilla
- Fotómetro con filtro de lectura de 555 nm
- Centrifuga

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Muestra problema
- Agua destilada
- Reactivo 1-D
- Reactivo 2- T
- Reactivo 3
- Calibrador
- Control Normal y/o Patológico de 1a o 3era opinión

4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

Reactivo 1- (D)		Reactivo 2- (T)	
• Ácido sulfanílico	30 mmol/ L	• Ácido sulfanílico	30 mmol/ L
• Ácido clorhídrico (ClH)	150 mmol/ L	• Ácido clorhídrico (ClH)	50 mmol/ L
•		• Dimetildulfóxido (DMSO)	7 mmol/ L

Reactivo 3 \rightarrow Sodio nitrito 29 mmol/ L

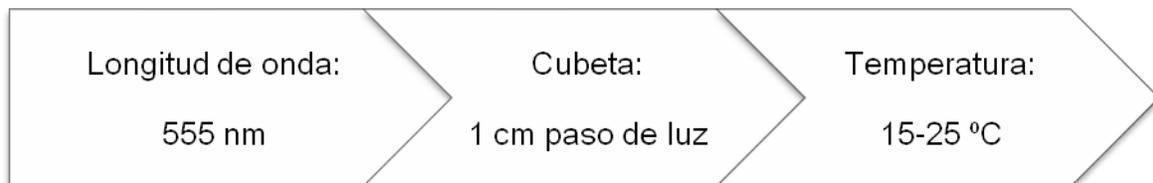
4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD

Los reactivos de trabajo están listos para usarse y son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, mientras se encuentren en refrigeración (2-8°C)

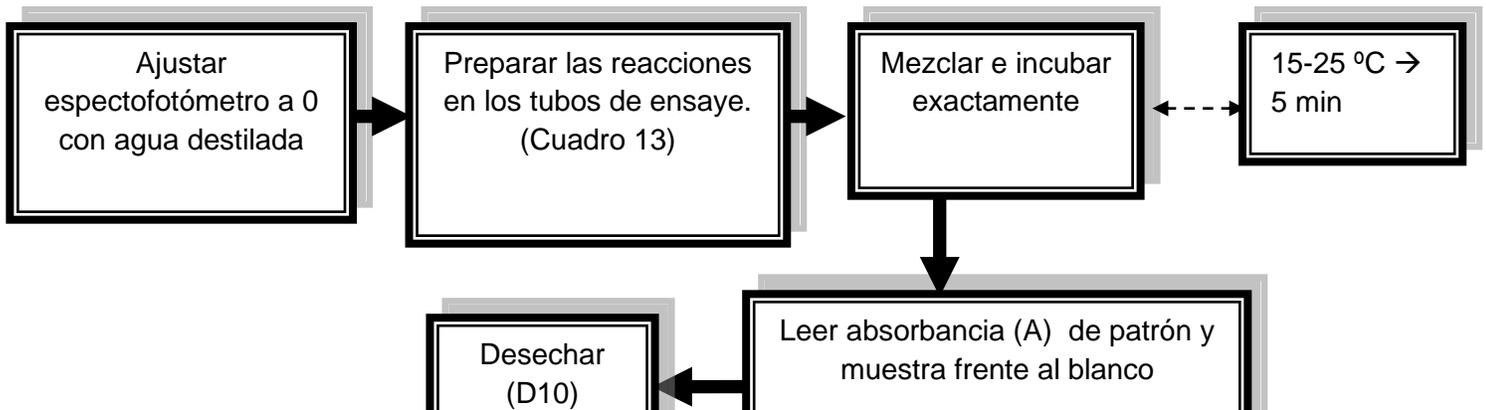
NOTA: La presencia de partículas y turbidez, así como desarrollo de color en el R2 son indicadores del deterioro de los reactivos

5. PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:



- Metodología



Cuadro 13

	Blanco	B. Total	Blanco	B. Directa
R1-D (mL)	--	--	1,5	1,5
R2-T (mL)	1,5	1,5	--	--
R3 (μL)	--	50	--	50
Patrón / Control / Muestra (μL)	100	100	100	100

CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

- El suero debe separarse lo antes posible de los hematíes.
- La presencia de hemólisis disminuye el valor de la bilirrubina
- Proteger la muestra de la luz

6. CÁLCULOS

✓ Con calibrador:

$$\frac{(A)Muestra - (A)Blanco Muestra}{(A)Calibrador - (A)Blanco Calibrador} \times [Calibrador] = \text{mg/dL de bilirrubina en la muestra}$$

✓ Con factor:

$$[(A)Muestra - (A)Blanco Muestra] \times \text{Factor}^* = \text{mg/dL de bilirrubina en la muestra}$$

$$\text{Factor}^* = \frac{[Calibrador]}{(A) Calibrador - (A)Blanco de Calibrador}$$

✓ Factor de conversión: mg/dL x 17,1 = μmol/ L

7. VALORES DE REFERENCIA

- ❖ Bilirrubina Total: Hasta 1,10 mg/ dL \cong 18,81 μmol/ L
- ❖ Bilirrubina Directa: Hasta 0,25 mg/ dL \cong 4,27 μmol/ L

8. MANEJO DE RESIDUOS

El Ácido clorhídrico y ácido sulfanílico presentes en los reactivos están clasificados como H314 (Irritación o corrosión cutáneas-Categoría 1A), H318 (Lesiones oculares graves o irritación ocular-Categoría 1) y H290 (Corrosivos para los metales-Categoría 1) por el reglamento (UE) No. 1272/2008; por lo que se encuentran etiquetados con el siguiente pictograma de peligro:



GHS05 → Corrosión

Por lo que los residuos de dicha práctica deberán depositarse en el contenedor etiquetado como D10-Bilirrubina, y por ningún motivo en la tarja debido a su ecotoxicidad.

7.1.2 ALBÚMINA

Verde de bromocresol. Colorimétrico

1. INTRODUCCIÓN

2. OBJETIVOS

- Demostrar el manejo adecuado de la técnica para la determinación de albúmina en una muestra biológica.
- Establecer los valores de referencia de la albúmina y comparar con el valor de nuestra muestra problema a analizar.
- Definir cuáles son las principales patologías que se presentan si tenemos valores altos o bajos de albúmina en una muestra biológica

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La albúmina se combina con el verde de bromocresol a pH ligeramente ácido, produciéndose un cambio de color del indicador, de amarillo verdoso a verde azulado proporcional a la concentración de albúmina en la muestra

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero o Plasma sin hemólisis

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Micropipeta de 1000 μ L
- 1 Micropipeta de 50 μ L
- 1 Piseta
- 2 Celdas de plástico de 3 mL
- 5 Tubos de vidrio de 13x100
- Puntas para micropipeta
- Gradilla
- Fotómetro con filtro de lectura de 630 nm
- Centrífuga

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Muestra problema
- Agua destilada
- Reactivo
- Calibrador
- Control Normal y/o Patológico de 1a o 3era opinión

4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

Reactivo → Verde de bromocresol pH 4,2 → 29 mmol/ L

Patrón primario de Albúmina(SPINREACT) → 5 g/ dL

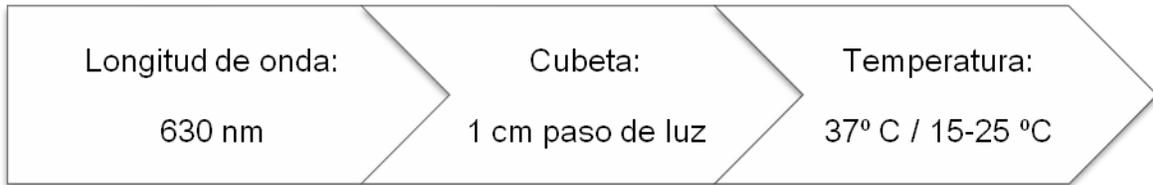
4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD

Los reactivos de trabajo están listos para usarse y son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, mientras se encuentren en refrigeración (2-8°C)

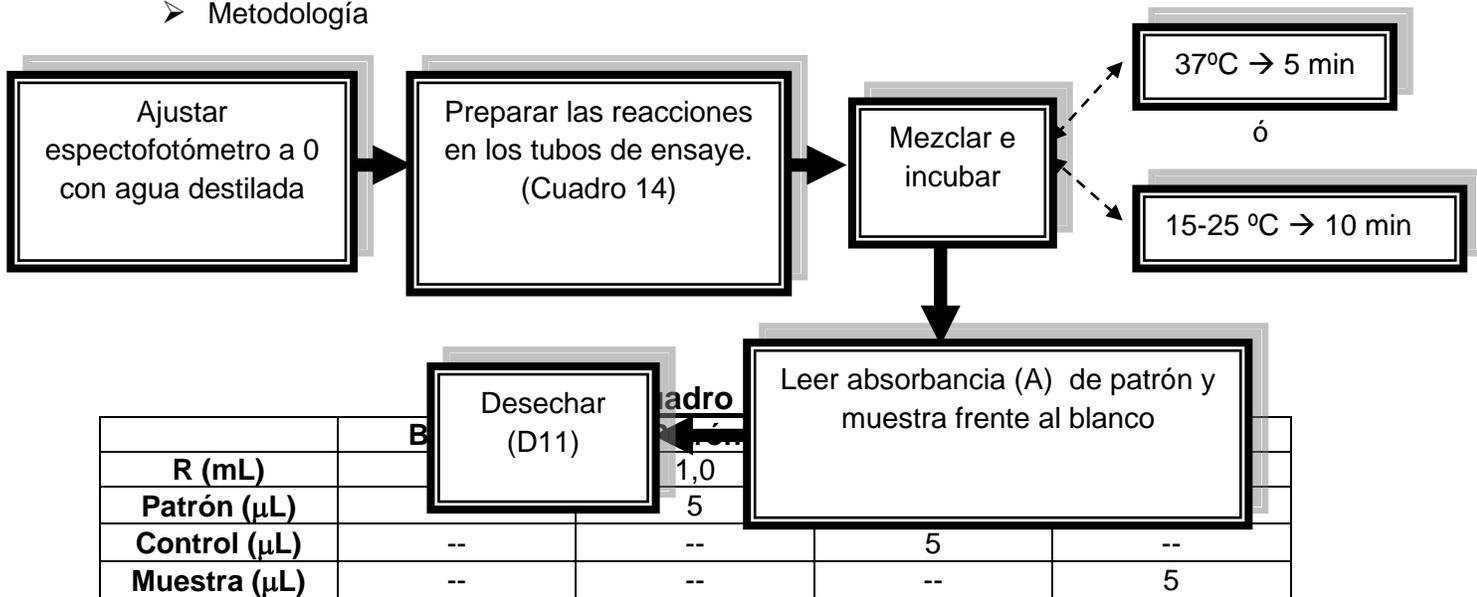
NOTA: La presencia de partículas y turbidez, así como absorbancias del blanco a 630nm mayores o iguales a 0,40 son indicadores del deterioro de los reactivos

5. PROCEDIMIENTO

➤ Condiciones del ensayo:



➤ Metodología



CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

- El color es estable hasta máximo 60 minutos a temperatura ambiente
- La hemólisis (hasta 1 g/ L de hemoglobina), la bilirrubina hasta 110 mg/ L y la lipemia hasta 10 g/ L interfieren con los resultados

6. CÁLCULOS

✓ Suero o Plasma:

$$\frac{(A)Muestra - (A)Blanco}{(A)Calibrador - (A) Blanco} \times [Patrón] = \text{g/dL de albúmina en la muestra}$$

✓ Factor de conversión: mg/dL x 144,9 = µmol/ L

7. VALORES DE REFERENCIA

❖ Suero o Plasma: 3,5 - 5,0 g/ dL

8. MANEJO DE RESIDUOS

Debido a la Azida Sódica presente en los reactivos de la práctica, los residuos no pueden desecharse en el drenaje, deberán colocarse en el contenedor de residuos etiquetado como D11-Albúmina

7.1.3 PROTEÍNAS TOTALES Biuret Colorimétrico

1. INTRODUCCIÓN

2. OBJETIVOS

- Demostrar el manejo adecuado de la técnica para la determinación de proteínas en una muestra biológica.
- Establecer los valores de referencia de proteínas y comparar con el valor de nuestra muestra problema a analizar.
- Definir cuáles son las principales patologías que se presentan si tenemos valores altos o bajos de proteínas

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Los grupos $-CO-NH-$ unidos entre sí dan una reacción con formación de color violeta con las sales cúpricas en medio alcalino, siendo la más representativa y simple la que da con el Biuret $-NH_2-CO-NH-CO-NH_2$. Es en la actualidad el método colorimétrico más exacto y simple para la determinación de proteínas totales.

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero o Plasma heparinizado

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Micropipeta de 1000 μ L
- 1 Micropipeta de 50 μ L
- 1 Piseta
- 2 Celdas de plástico de 3 mL
- 5 Tubos de vidrio de 13x100
- Puntas para micropipeta
- Gradilla
- Fotómetro con filtro de lectura de 540 nm
- Centrífuga

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Muestra problema
- Agua destilada
- Reactivo
- Calibrador
- Control Normal y/o Patológico de 1a o 3era opinión

4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

Reactivo - Biuret

- | | | | |
|--------------------------|----------------------|-------------------------|-----------|
| • Potasio sodio tartrato | 15 mmol/ L | • Yoduro de Potasio | 5 mmol/ L |
| • Yoduro sódico | 100 mmol/ L | • Sulfato de cobre (II) | 5 mmol/ L |
| | • Hidróxido de sodio | 1000 mmol/ L | |

Patrón primario de Albúmina Bovina (SPINREACT) \rightarrow 7 g/ dL

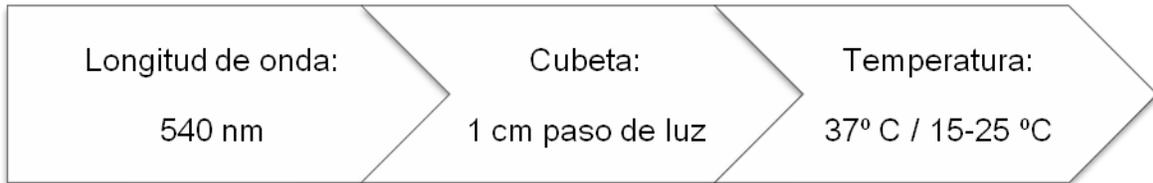
4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD

Los reactivos de trabajo están listos para usarse y son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, mientras se encuentren en refrigeración (2-8°C)

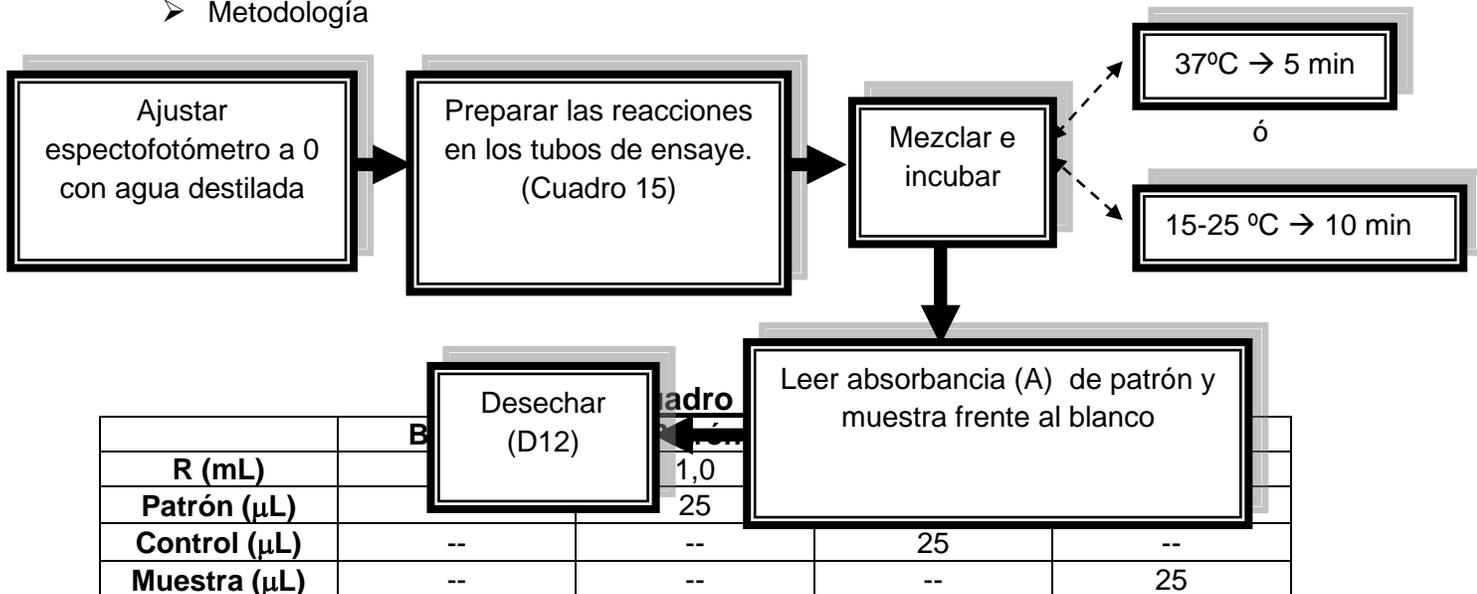
NOTA: La presencia de partículas y turbidez, así como absorbancias del blanco a 540nm mayores o iguales a 0,22 son indicadores del deterioro de los reactivos

5. PROCEDIMIENTO

➤ Condiciones del ensayo:



➤ Metodología



CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

- El color es estable hasta máximo 30 minutos a temperatura ambiente
- La hemólisis y la lipemia interfieren con los resultados

6. CÁLCULOS

✓ Suero o Plasma:

$$\frac{(A)\text{Muestra} - (A)\text{Blanco}}{(A)\text{Calibrador} - (A)\text{Blanco}} \times [\text{Patrón}] = \text{g/dL de proteínas totales en la muestra}$$

7. VALORES DE REFERENCIA

- ❖ Suero o Plasma:
 - Adultos: 6,6 - 8,3 g/ dL
 - Recién nacidos: 5,2 - 9,1 g/ dL

8. MANEJO DE RESIDUOS

El Hidróxido de sodio presente en el reactivo están clasificado como H314 (Irritación o corrosión cutáneas-Categoría 1A), H318 (Lesiones oculares graves o irritación ocular-Categoría 1) y H290 (Corrosivos para los metales- Categoría 1) por el reglamento (UE) No. 1272/2008; por lo que se encuentran etiquetados con el siguiente pictograma de peligro:



GHS05 → Corrosión

Por lo que los residuos de dicha práctica deberán depositarse en el contenedor etiquetado como D12-Proteínas Totales y por ningún motivo en la tarja debido a su ecotoxicidad.

7.2 INTRODUCCIÓN A LA ENZIMOOGÍA CLÍNICA

7.2.1 FOSFATASA ALCALINA (FAL/ALP) p-Nitrofenilfosfato. Cinético . AMP buffer (IFCC)

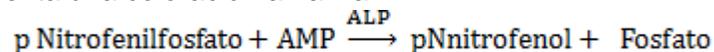
1. INTRODUCCIÓN

2. OBJETIVOS

- Demostrar el manejo adecuado de la técnica para la determinación de la enzima fosfatasa alcalina ALP en una muestra biológica
- Establecer los valores normales de referencia de la actividades de esta enzima y comparar con el valor de nuestra muestra problema a analizar.
- Definir cuáles son las principales patologías que se presentan si tenemos valores altos o bajos de estas enzimas en una muestra biológica.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Test acorde a la International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicines (IFCC). La fosfatasa alcalina (FAL/ALP) cataliza la transferencia del grupo fosfato desde el p-nitrofenilfosfato (pNPP) al 2-amino-2-metil-1-propanol (AMP) liberando p-nitrofenol y fosfato, que presenta una coloración amarilla.



4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero o Plasma heparinizado

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Micropipeta de 1000 μL
- 1 Micropipeta de 50 μL
- 1 Piseta
- 2 Celdas de plástico de 3 mL
- 5 Tubos de vidrio de 13x100
- Puntas para micropipeta

- Gradilla
- Fotómetro con filtro de lectura de 405 nm

- Centrífuga

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Muestra problema
- Agua destilada
- Reactivo 1- Tampón
- Reactivo 2- Sustrato

- Control Normal y/o Patológico de 1a o 3era opinión

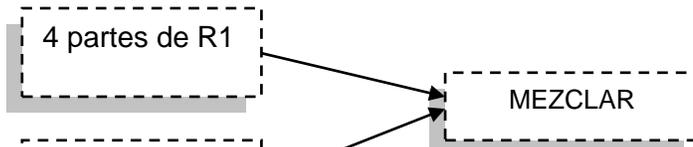
4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

Reactivo 1- Tampón

- | | | | |
|------------------------------------|-------------|--------------------|-----------|
| • 2-Amino-2-metil-1-propanol (AMP) | 0,35mmol/ L | • Magnesio acetato | 2 mmol/ L |
| • Zinc sulfato | 1 mmol/ L | • EDTA | 2 mmol/ L |

Reactivo 2-Sustrato → p-Nitrodenilfosfato (pNPP) → 10 mmol/ L

4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD

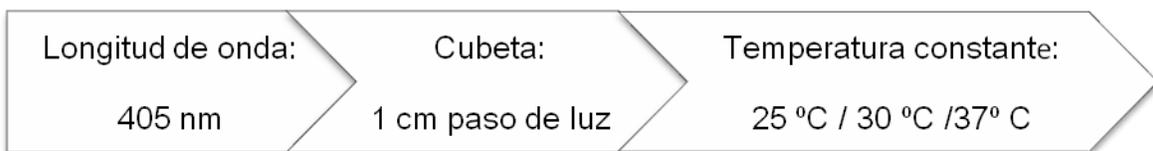


Una vez por 1 parte de R2 el producto de trabajo (RT) es estable por 21 en refrigeración (2-8 °C) o por 5 días a temperatura ambiente (15-25 °C)

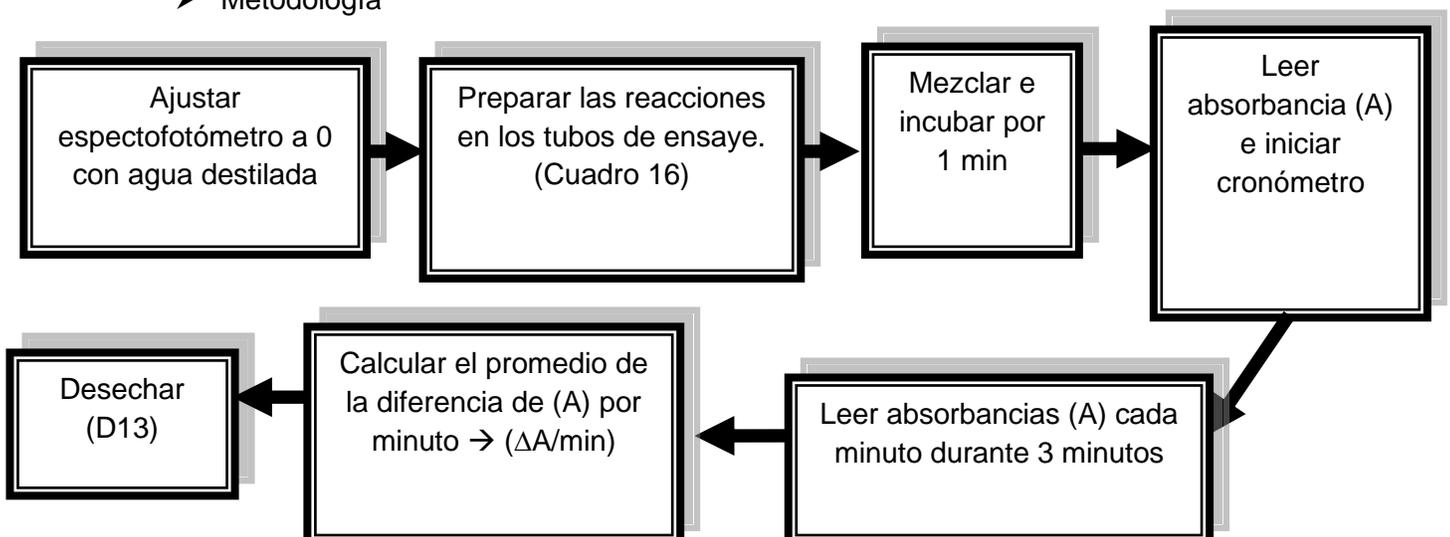
NOTA: La presencia de partículas y turbidez, así como absorbancias del blanco a 405nm mayores o iguales a 1,50 son indicadores del deterioro de los reactivos

5. PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:



- Metodología



Cuadro 16

	Blanco	Control	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Control (µL)	--	20	--
Muestra (µL)	--	--	20

CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

- Se debe separar lo antes posible de los hematíes
- La actividad de la enzima debe ser determinada rápidamente
- El fluoruro, oxalato, citrato y EDTA inhiben la actividad de la fosfatasa alcalina, por lo que no deben ser utilizados como anticoagulantes
- La hemólisis interfiere debido a la elevada concentración de fosfatasa alcalina en los eritrocitos

6. CÁLCULOS

- ✓ Suero o Plasma:
 - $\Delta A / \text{min} \times 2764 = \text{U/L de FAL/ ALP}$
- ✓ Factores de conversión de temperaturas → Para transformar a otras temperaturas multiplicar por:

Temperatura de medición	Factor para convertir		
	25 °C	30 °C	37 °C
25 °C	1,00	1,22	1,64
30 °C	0,82	1,00	1,33
37 °C	0,61	0,75	1,00

7. VALORES DE REFERENCIA

- ❖ Suero o Plasma:

	<u>25 °C</u>	<u>30 °C</u>	<u>37 °C</u>
Adultos	17 – 77 U/ L	21 – 94 U/ L	26 – 117 U/ L

8. MANEJO DE RESIDUOS

Debido a la Azida Sódica presente en los reactivos de la práctica, los residuos no pueden desecharse en el drenaje, deberán colocarse en el contenedor de residuos etiquetado como D16-ALP /FAL

7.2.2 GAMMA GLUTAMIL TRANSFERASA (γ -GT/GGT) Sustrato carboxilado. Cinético .

1. INTRODUCCIÓN

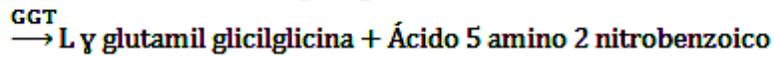
2. OBJETIVOS

- Demostrar el manejo adecuado de la técnica para la determinación de la gama glutamil trasferasa en una muestra biológica.
- Establecer los valores de referencia de la enzima GGT y comparar con el valor de nuestra muestra problema a analizar.
- Definir cuáles son las principales patologías que se presentan si tenemos valores altos o bajos de GGT en una muestra biológica

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La gamma-glutamyl transferasa (γ -GT) cataliza la transferencia de un grupo γ -glutamilo de la L- γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida al dipéptido aceptor glicilglicina:

L γ glutamil 3 carboxi 4 nitroanilida + glicilglicina



4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Micropipeta de 1000 μ L
- 1 Piseta
- 2 Celdas de plástico de 3 mL
- 5 Tubos de vidrio de 13x100
- Puntas para micropipeta
- Gradilla
- Fotómetro con filtro de lectura de 405 nm
- Centrífuga

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Muestra problema
- Agua destilada
- Reactivo 1- Tampón
- Reactivo 2- Sustrato
- Control Normal y/o Patológico de 1a o 3era opinión

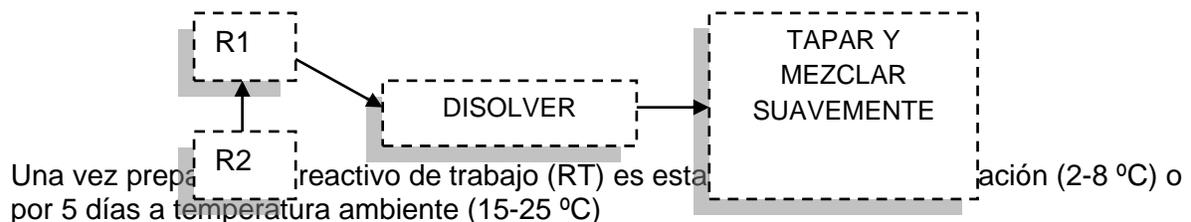
4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

Reactivo 1- Tampón \rightarrow TRIS pH 8,25 \rightarrow 100 mmol/ L

Reactivo 2- Sustrato

- Glicilglicina 100 mmol/ L
- L- γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida 3 mmol/ L

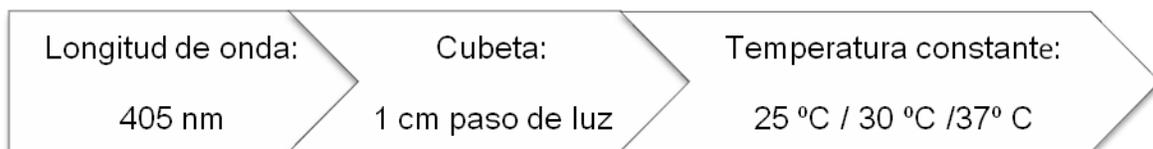
4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD



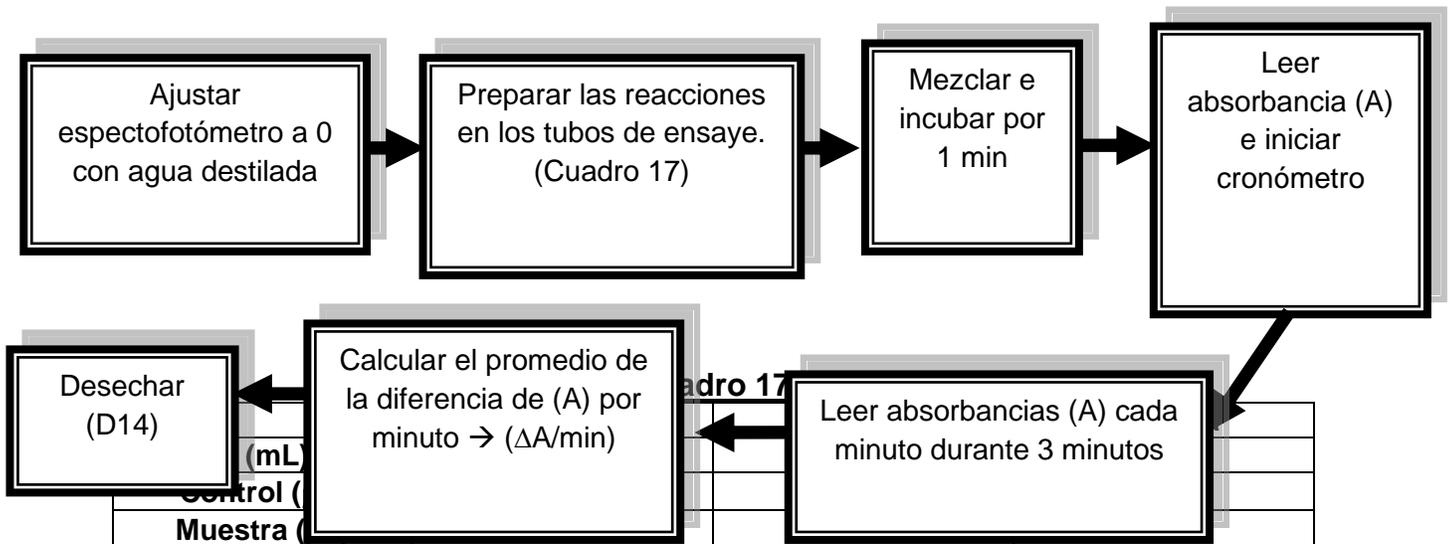
NOTA: La presencia de partículas y turbidez, así como absorbancias del blanco a 405nm mayores o iguales a 1,80 son indicadores del deterioro de los reactivos

5. PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:



- Metodología



CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

- Se debe separar lo antes posible de los hematíes
- No utilizar plasma
- La actividad de la enzima debe ser determinada rápidamente
- Los anticoagulantes inhiben la enzima
- La hemólisis elevada interfiere el ensayo

6. CÁLCULOS

- ✓ Suero o Plasma:
 - $\Delta A / \text{min} \times 1190 = \text{U/L de } \gamma\text{-GT}$
- ✓ Factores de conversión de temperaturas → Para transformar a otras temperaturas multiplicar por:

Temperatura de medición	Factor para convertir		
	25 °C	30 °C	37 °C
25 °C	1,00	1,37	1,79
30 °C	0,73	1,00	1,30
37 °C	0,56	0,77	1,00

7. VALORES DE REFERENCIA

❖ Suero:	25 °C	30 °C	37 °C
Mujeres	4 - 18 U/ L	5 - 25 U/ L	7 - 32 U/ L
Hombres	6 - 28 U/ L	8 - 38 U/ L	11- 50 U/ L

8. MANEJO DE RESIDUOS

Debido a la Azida Sódica presente en los reactivos de la práctica, los residuos no pueden desecharse en el drenaje, deberán colocarse en el contenedor de residuos etiquetado como D14- GGT

7.2.3 ASPARTATO AMINOTRANSFERASA- GOT (AST) NADH. Cinético-UV. IFCC

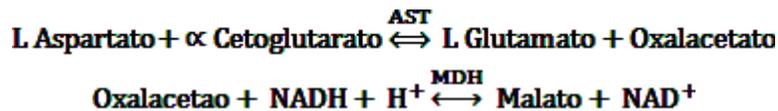
1. INTRODUCCIÓN

2. OBJETIVOS

- Aplicar el manejo adecuado de la técnica para la determinación de la aspartato aminotransferasa en una muestra biológica.
- Establecer los valores de referencia de la enzima AST y comparar con el valor de nuestra muestra problema a analizar.
- Definir cuáles son las principales patologías que se presentan si tenemos valores altos o bajos de AST en una muestra biológica.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La aspartato aminotransferasa (AST) inicialmente llamada transaminasa glutamato oxaloacética (GOT) cataliza la transferencia reversible de un grupo amino del L-aspartato al α -cetoglutarato con formación de L-glutamato y oxalacetato. El oxalacetato producido es reducido a malato en presencia de malato deshidrogenasa (MDH), con la oxidación de NADH a NAD⁺



4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero o plasma

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- | | |
|---------------------------------|---|
| • 1 Micropipeta de 1000 μ L | • Gradilla |
| • 1 Piseta | • Fotómetro con filtro de lectura de 340 nm |
| • 2 Celdas de plástico de 3 mL | • Centrifuga |
| • 5 Tubos de vidrio de 13x100 | |
| • Puntas para micropipeta | |

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- | | |
|------------------------|--|
| • Muestra problema | |
| • Agua destilada | • Control Normal y/o Patológico de 1a o 3era opinión |
| • Reactivo 1- Tampón | |
| • Reactivo 2- Sustrato | |

4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

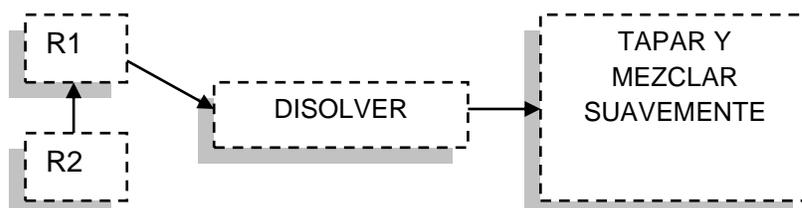
Reactivo 1- Tampón

- | | |
|---------------|-------------|
| • TRIS pH 7,8 | 80 mmol/ L |
| • L-Aspartato | 200 mmol/ L |

Reactivo 2- Sustrato

- | | |
|--------------------------------|--------------|
| • NADH | 0,18 mmol/ L |
| • Lactado deshidrogenasa (LDH) | 8000 U/ L |
| • Malato deshidrogenasa (MDH) | 600 U/ L |
| • α -Cetoglutarato | 12 mmol/ L |

4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD



6. CÁLCULOS

- ✓ Suero o Plasma:
 - $\Delta A / \text{min} \times 1750 = \text{U/L de AST}$
- ✓ Factores de conversión de temperaturas → Para transformar a otras temperaturas multiplicar por:

Temperatura de medición	Factor para convertir		
	25 °C	30 °C	37 °C
25 °C	1,00	1,37	2,08
30 °C	0,73	1,00	1,54
37 °C	0,48	0,65	1,00

7. VALORES DE REFERENCIA

❖ Suero:	25 °C	30 °C	37 °C
Mujeres	Hasta 16 U/ L	22 U/ L	38 U/ L
Hombres	Hasta 19 U/ L	26 U/ L	31 U/ L

8. MANEJO DE RESIDUOS

Debido a la Azida Sódica presente en los reactivos de la práctica, los residuos no pueden desecharse en el drenaje, deberán colocarse en el contenedor de residuos etiquetado como D15 AST

UNIDAD VIII

PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO CARDIACO

8.1) INTRODUCCIÓN

8.2 ALANINA AMINOTRANSFERASA (GPT/ALT) NADH. Cinético-UV.

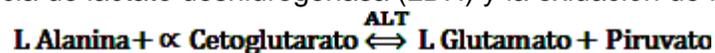
1. INTRODUCCIÓN

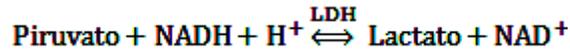
2. OBJETIVOS

- Aplicar el manejo adecuado de la técnica para la determinación de la alanina aminotransferasa en una muestra biológica.
- Establecer los valores de referencia de la enzima ALT y comparar con el valor de nuestra muestra problema a analizar.
- Definir cuáles son las principales patologías que se presentan si tenemos valores altos o bajos de ALT en una muestra biológica

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La alanina aminotrasferasa (ALT) inicialmente llamada transaminasa glutámico pirúvica (GPT) cataliza la transferencia reversible de un grupo amino de la alanina al α -cetoglutarato con formación de glutamato y piruvato. El piruvato producido es reducido a lactato en presencia de lactato deshidrogenasa (LDH) y la oxidación de NADH a NAD⁺





4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero o plasma

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Micropipeta de 1000 μL
- 1 Piseta
- 2 Celdas de plástico de 3 mL
- 5 Tubos de vidrio de 13x100
- Puntas para micropipeta
- Gradilla
- Fotómetro con filtro de lectura de 340 nm
- Centrifuga

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Muestra problema
- Agua destilada
- Reactivo 1- Tampón
- Reactivo 2- Sustrato
- Control Normal y/o Patológico de 1a o 3era opinión

4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

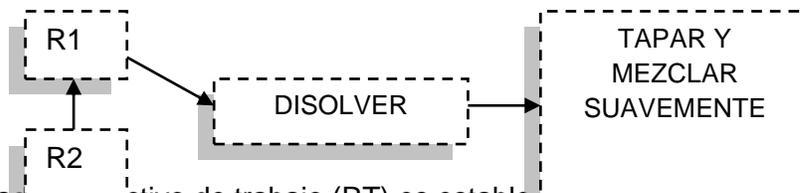
Reactivo 1- Tampón

- TRIS pH 7,8 100 mmol/ L
- L-Alanina 500 mmol/ L

Reactivo 2- Sustrato

- NADH 0,18 mmol/ L
- Lactado deshidrogenasa (LDH) 1200 U/ L
- α -Cetoglutarato 15 mmol/ L

4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD

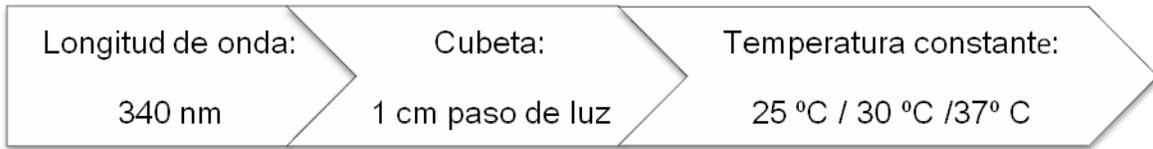


Una vez preparado el reactivo de trabajo (RT) es estable por congelación (2-8 °C) o por 72 horas a temperatura ambiente (15-25 °C)

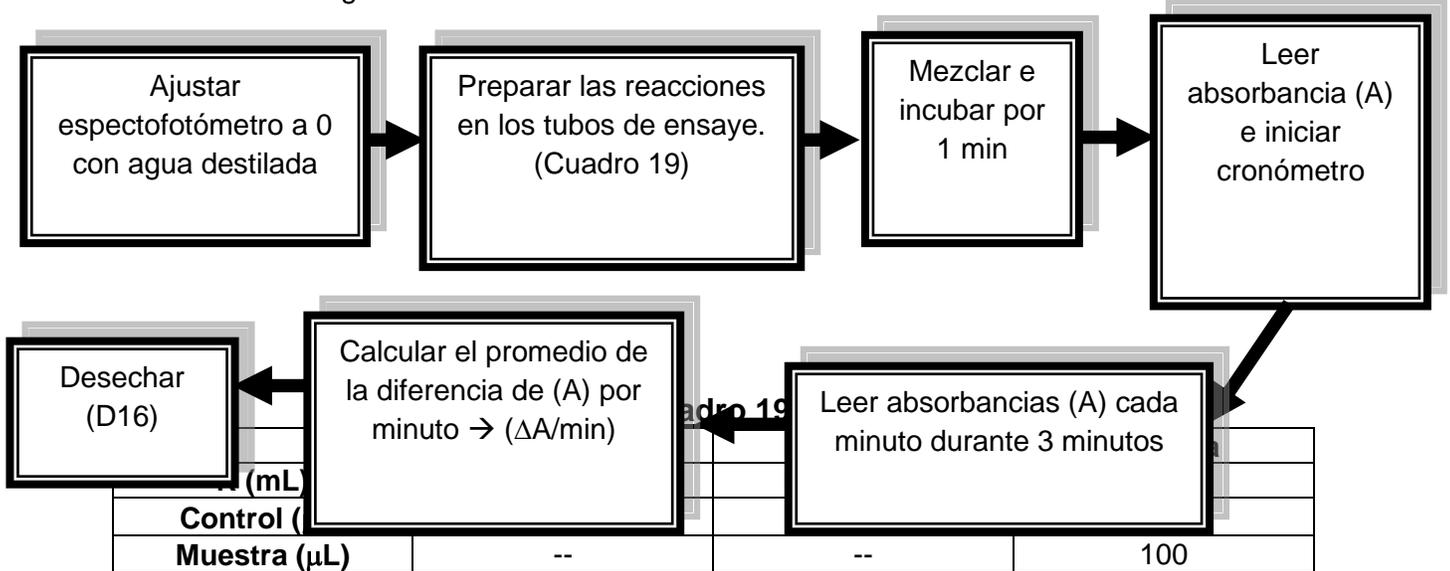
NOTA: La presencia de partículas y turbidez, así como absorbancias del blanco a 340nm menores o iguales a 1,00 son indicadores del deterioro de los reactivos

5. PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:



➤ Metodología



CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

- La actividad de la enzima debe ser determinada rápidamente
- Los anticoagulantes como heparina, EDTA, oxalato o fluoruro no inhiben la enzima
- La hemólisis interfiere el ensayo

6. CÁLCULOS

- ✓ Suero o Plasma:
 - $\Delta A / \text{min} \times 1750 = \text{U/L de ALT}$
- ✓ Factores de conversión de temperaturas → Para transformar a otras temperaturas multiplicar por:

Temperatura de medición	Factor para convertir		
	25 °C	30 °C	37 °C
25 °C	1,00	1,32	1,88
30 °C	0,76	1,00	1,39
37 °C	0,55	0,72	1,00

7. VALORES DE REFERENCIA

❖ Suero:	25 °C	30 °C	37 °C
Mujeres	Hasta 18 U/ L	22 U/ L	32 U/ L
Hombres	Hasta 22 U/ L	29 U/ L	40 U/ L

8. MANEJO DE RESIDUOS

Debido a la Azida Sódica presente en los reactivos de la práctica, los residuos no pueden desecharse en el drenaje, deberán colocarse en el contenedor de residuos etiquetado como D16- ALT

8.3 CREATIN CINASA (CK) NAC. Cinético-UV

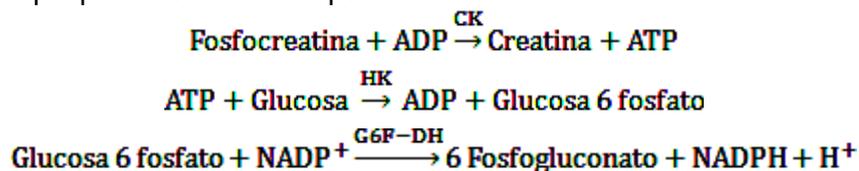
1. INTRODUCCIÓN

2. OBJETIVOS

- Aplicar el manejo adecuado de la técnica para la determinación de la Creatin cinasa.
- Establecer los valores de referencia de la enzima CK y comparar con el valor de nuestra muestra problema a analizar.
- Definir cuáles son las principales patologías que se presentan si tenemos valores altos o bajos de CK.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La creatina quinasa (CK) cataliza la transferencia reversible de un grupo fosfato de la fosfocreatina al ADP. La formación de ATP se mide mediante dos reacciones acopladas con otras, catalizadas por la hexoquinasa (HK) y por la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6F-DH), lo que produce NADPH a partir de NADP⁺



4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero o Plasma

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Micropipeta de 1000 μL
- 1 Micropipeta de 50 μL
- 1 Piseta
- 2 Celdas de plástico de 3 mL
- 5 Tubos de vidrio de 13x100
- Puntas para micropipeta
- Gradilla
- Fotómetro con filtro de lectura de 340 nm
- Centrífuga

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Muestra problema
- Agua destilada
- Reactivo 1- Tampón
- Reactivo 2- Sustrato
- Control Normal y/o Patológico de 1a o 3era opinión

4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

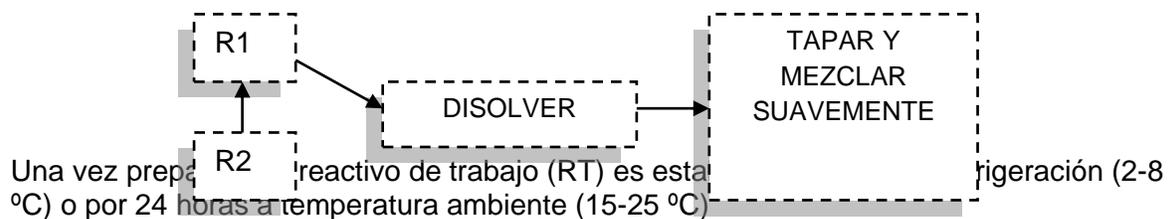
Reactivo 1- Tampón

- Imidazol pH 7,0 100 mmol/ L
- Glucosa 20 mmol/ L
- Acetato de magnesio 10 mmol/ L
- EDTA 2 mmol/ L

Reactivo 2- Sustrato

- ADP 2 mmol/ L
- AMP 5 mmol/ L
- Di-Adenosina-5-pentafosfato 10 mmol/ L
- NADP+ 2 mmol/ L
- Hexoquinasa (HK) 2500 U/ L
- G6F-DH 1500 U/ L
- N-acetilcisteína 20 mmol/ L
- Fosfato de creatina 30 mmol/ L

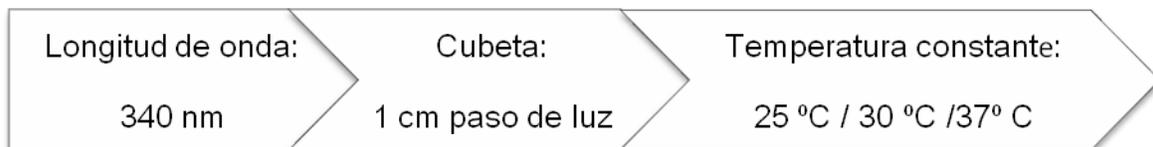
4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD



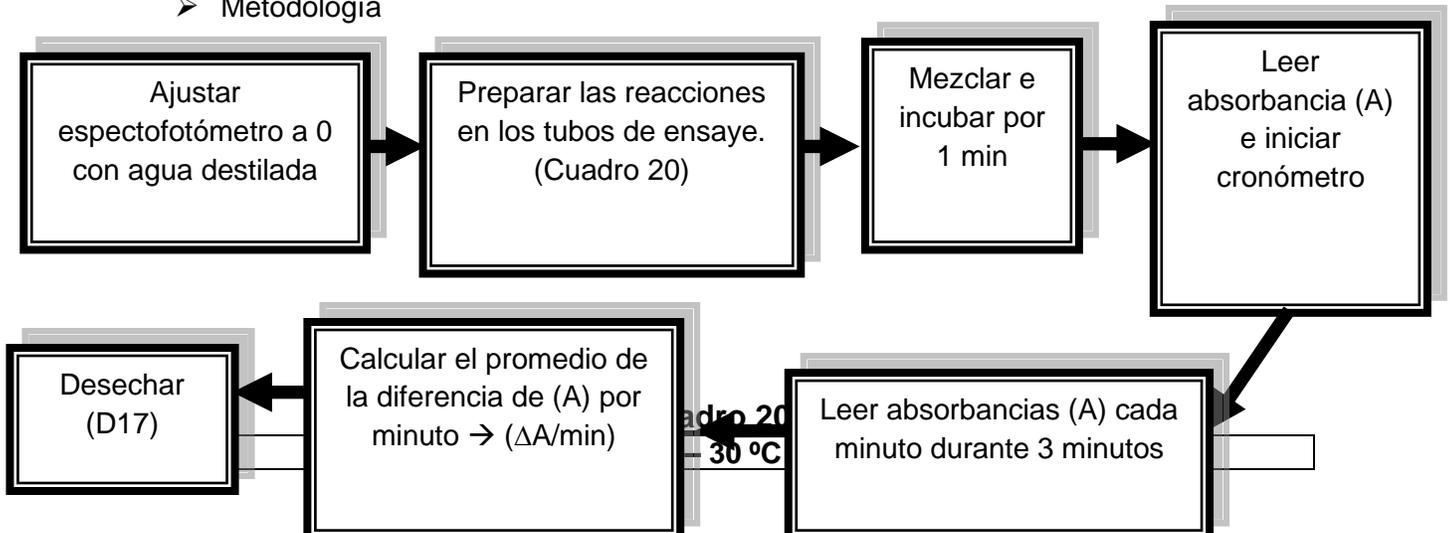
NOTA: La presencia de partículas y turbidez, así como absorbancias del blanco a 340nm mayores o iguales a 1,00 son indicadores del deterioro de los reactivos

5. PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:



- Metodología



R (mL)	1,0	1,0
Control / Muestra (μL)	40	20

CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

- La actividad de la enzima debe ser determinada rápidamente
- La hemólisis no interfiere el ensayo

6. CÁLCULOS

- ✓ Suero:
 - 25 – 30 °C $\Delta A / \text{min} \times 4127 = \text{U/L de CK}$
 - 37 °C $\Delta A / \text{min} \times 8095 = \text{U/L de CK}$
- ✓ Factores de conversión de temperaturas → Para transformar a otras temperaturas multiplicar por:

Temperatura de medición	Factor para convertir		
	25 °C	30 °C	37 °C
25 °C	1,00	1,56	2,44
30 °C	0,64	1,00	1,56
37 °C	0,41	0,63	1,00

7. VALORES DE REFERENCIA

❖ Suero:		25 °C	30 °C	37 °C
Mujeres	Hasta	70 U/ L	110 U/ L	170 U/ L
Hombres	Hasta	80 U/ L	130 U/ L	195 U/ L

8. MANEJO DE RESIDUOS

El Imidazol presente en el reactivo 1 está clasificados como H360 (Puede perjudicar la fertilidad o dañar al feto) por el reglamento (UE) No. 1272/2008; por lo que se encuentran etiquetados con el siguiente pictograma de peligro:



GHS08 → Riesgo mutagénico

Por lo que los residuos de dicha práctica deberán depositarse en el contenedor etiquetado como D17-Creatin Cinasa, y por ningún motivo en la tarja debido a su ecotoxicidad.

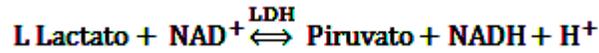
8.4 LACTATO DESHIDROGENASA (LDH) Piruvato. Cinético-UV.

1. INTRODUCCIÓN

2. OBJETIVOS

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La LDH cataliza la oxidación reversible de L-lactato a piruvato con la reducción concurrente NAD^+ a NADH . La deshidrogenasa láctica está presente en muchos tejidos. La LDH cataliza la interconversión de piruvato y lactato:



4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Micropipeta de 1000 μL
- 1 Micropipeta de 50 μL
- 1 Piseta
- 2 Celdas de plástico de 3 mL
- 5 Tubos de vidrio de 13x100
- Puntas para micropipeta
- Gradilla
- Fotómetro con filtro de lectura de 340 nm
- Centrifuga

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Muestra problema
- Agua destilada
- Reactivo 1- Tampón
- Reactivo 2- Sustrato
- Control Normal y/o Patológico de 1a o 3era opinión

4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

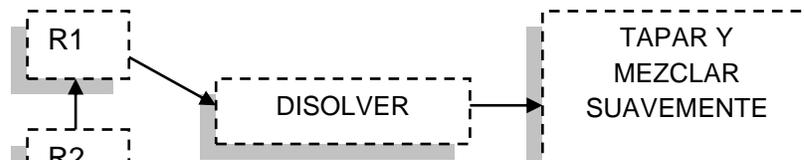
Reactivo 1- Tampón

- Imidazol 0,65 mmol/ L
- Piruvato 0,18 mmol/ L
- NADH

Reactivo 2- Sustrato

0,18 mmol/ L

4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD

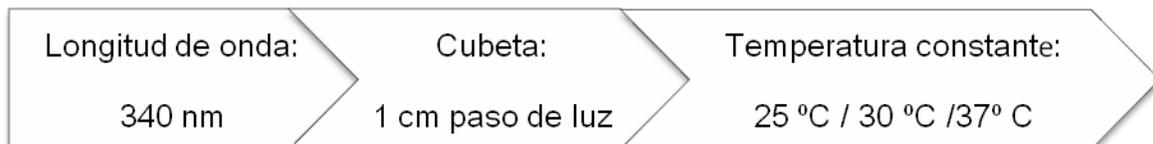


Una vez preparado el reactivo de trabajo (RT) es estable por 24 horas a temperatura ambiente (15-25 °C) o por 12 horas a temperatura ambiente (15-25 °C)

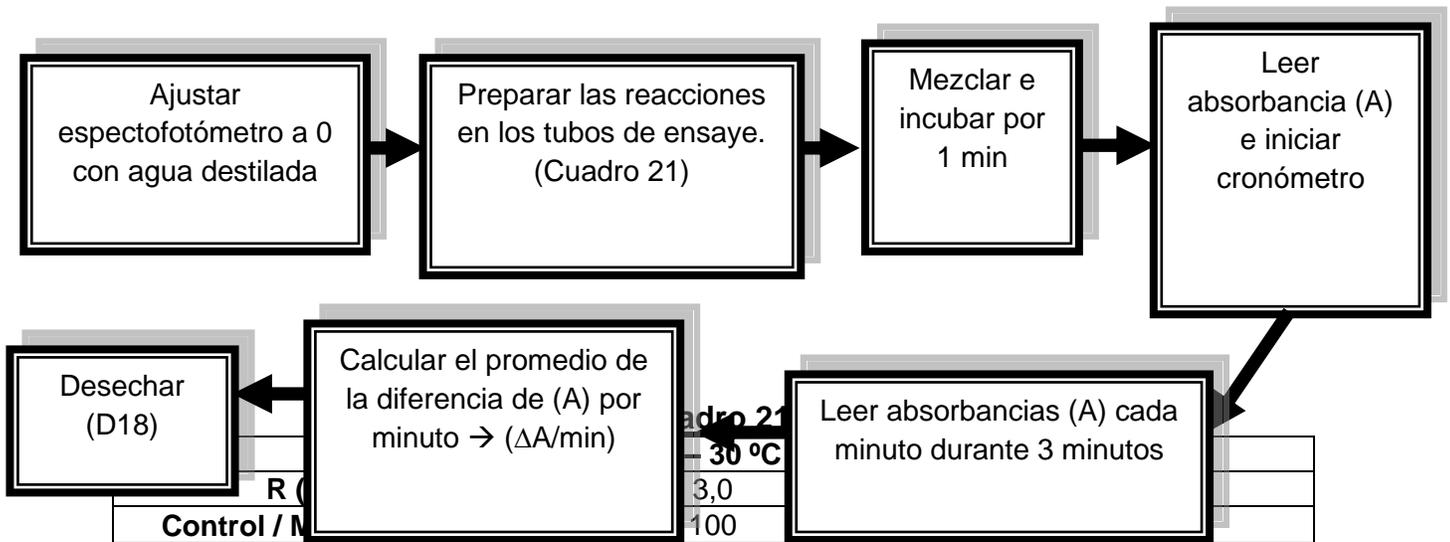
NOTA: La presencia de partículas y turbidez, así como absorbancias del blanco a 340nm menores o iguales a 1,00 son indicadores del deterioro de los reactivos

5. PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:



- Metodología



CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

- La actividad de la enzima debe ser determinada rápidamente
- Los anticoagulantes como heparina, EDTA, oxalato o fluoruro interfieren en la reacción.
- La hemólisis no interfiere el ensayo

6. CÁLCULOS

- ✓ Suero:
 - 25 – 30 °C $\Delta A / \text{min} \times 4925 = \text{U/L de LDH}$
 - 37 °C $\Delta A / \text{min} \times 9690 = \text{U/L de LDH}$
- ✓ Factores de conversión de temperaturas → Para transformar a otras temperaturas multiplicar por:

Temperatura de medición	Factor para convertir		
	25 °C	30 °C	37 °C
25 °C	1,00	1,33	1,92
30 °C	0,75	1,00	1,43
37 °C	0,52	0,70	1,00

7. VALORES DE REFERENCIA

- ❖ Suero:

25 °C	30 °C	37 °C
120 - 240 U/L	160 - 320 U/L	230 - 460 U/L

8. MANEJO DE RESIDUOS

El Imidazol presente en el reactivo 1 está clasificados como H360 (Puede perjudicar la fertilidad o dañar al feto) por el reglamento (UE) No. 1272/2008; por lo que se encuentran etiquetados con el siguiente pictograma de peligro:



GHS08 → Riesgo mutagénico

Por lo que los residuos de dicha práctica deberán depositarse en el contenedor etiquetado como D18-Creatin Cinasa, y por ningún motivo en la tarja debido a su ecotoxicidad.

8.5 CUESTIONARIO

1. ¿Qué es una cardiopatía?
2. ¿Qué son las transaminasas?
3. ¿Qué papel desempeñan las enzimas Lactato deshidrogenasa (LDH), Transaminasa Glutámico oxalacético (AST) y la Creatin Cinasa (CK) en el músculo cardíaco?
4. ¿Cuáles son los valores de referencia de las enzimas LDH, AST y CK?

UNIDAD XI PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO PANCREÁTICO

9.1 INTRODUCCIÓN

9.2 LIPASA (LPS)

Cinético Colorimétrico

1. INTRODUCCIÓN

2. OBJETIVOS

- Aplicar el manejo adecuado de la técnica para la determinación de la lipasa en una muestra biológica.
- Establecer los valores de referencia de la enzima LPS y comparar con el valor de nuestra muestra problema a analizar.
- Definir cuáles son las principales patologías que se presentan si tenemos valores altos o bajos de LPS en una muestra biológica

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La lipasa pancreática en presencia de colipasa, iones calcio y desoxicolato, hidroliza el sustrato 1-2-O-dilauril-rac-glicerol-3-glutárico-(6'-metilresorufina)- ester. Las secuencias de las reacciones para la determinación directa de la lipasa son las siguientes:

1,2 O dilauril rac glicerol 3 glutárico (6' metilresorufina) ester

Lipasa

→ 1,2 O dialauril rac glicerol + Ácido glutárico 6' etilresorufina ester (no estable)

1,2 O dialauril rac glicerol + Ácido glutárico 6' etilresorufina ester (no estable) $\xrightarrow{OH^-}$ Ácido glutárico + Metilresorufina

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero o plasma con citrato sódico, EDTA o heparina.

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Micropipeta de 1000 μ L
- 1 Micropipeta de 200 μ L
- 1 Piseta
- 2 Celdas de plástico de 3 mL
- 5 Tubos de vidrio de 13x100
- Puntas para micropipeta
- Gradilla

- Fotómetro con filtro de lectura de 580 nm

- Centrífuga

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Muestra problema
- Agua destilada
- Reactivo 1- Tampón
- Reactivo 2- Micro emulsión

- Patrón
- Control Normal y/o Patológico de 1a o 3era opinión

4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

Reactivo 1- Tampón

- TRIS pH 8,3 40 mmol/ L
- Colipasa ≥ 1 mg/ L
- Desoxicolato 1,8 mmol/ L
- Taurodesoxicolato 7,2 mmol/ L

Reactivo 2- Sustrato

- Tartrato pH 4,0 15 mmol/ L
- Lipasa $\geq 0,7$ mmol/ L
- Cloruro Calcio 0,1 mmol/ L

Patrón: Suero humano liofilizado. Su actividad de LPS está indicado en la etiqueta

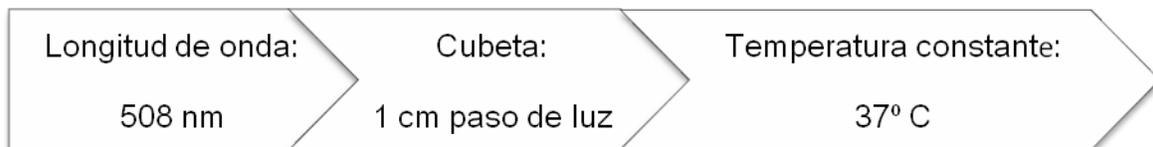
4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD

Los reactivos de trabajo están listos para usarse y son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, mientras se encuentren en refrigeración (2-8°C)

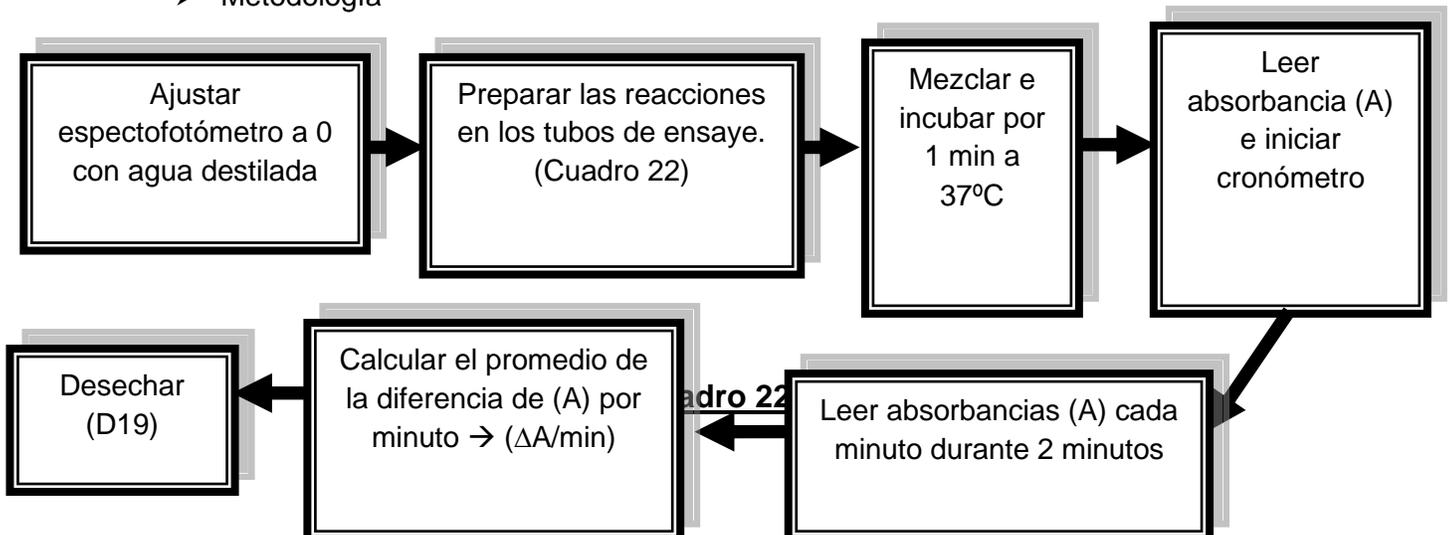
NOTA: La presencia de partículas y turbidez, así como absorbancias del blanco a 580nm mayores o iguales a 1,4 son indicadores del deterioro de los reactivos, así como el cambio de color de naranja a rojo para el R2.

5. PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:



- Metodología



	Blanco	Calibrador / Muestra
R1 (mL)	1,0	1,0
R2 (μL)	200	200
Agua destilada (μL)	10	--
Patrón / Muestra (μL)	--	10

CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

- La actividad de la enzima debe ser determinada rápidamente
- No congelar y descongelar varias veces la muestra.
- Los triglicéridos a 300 mg/ dL interfieren en la determinación de la lipasa, reduciendo su actividad un 6%.
- La hemoglobinas hasta 150 mg/ dL y bilirrubina hasta 20 mg/ DL no interfieren con el ensayo

6. CÁLCULOS

✓ Suero:

- $\Delta A / \text{min Muestra} - \Delta A / \text{min Blanco} = \Delta A / \text{min Muestra}$
- $\Delta A / \text{min Patrón} - \Delta A / \text{min Blanco} = \Delta A / \text{min Calibrador}$

$$\left(\frac{\Delta A / \text{min Muestra}}{\Delta A / \text{min Calibrador}} \right) \times \text{Actividad Calibrador} = \text{U/L de lipasa}$$

7. VALORES DE REFERENCIA

❖ Suero: $\leq 38 \text{ U/L}$

8. MANEJO DE RESIDUOS

Debido a la Azida Sódica presente en los reactivos de la práctica, los residuos no pueden desecharse en el drenaje, deberán colocarse en el contenedor de residuos etiquetado como D19- LPS

9.3 ALFA--AMILASA (AMS) CNP₃. Cinético

1. INTRODUCCIÓN

2. OBJETIVOS

- Aplicar el manejo adecuado de la técnica para la determinación de la amilasa en una muestra biológica.
- Establecer los valores de referencia de la enzima AMY y comparar con el valor de nuestra muestra problema a analizar.
- Definir cuáles son las principales patologías que se presentan si tenemos valores altos o bajos de AMY en una muestra biológica.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La -amilasa hidroliza el 2-cloro-4-nitrofenil- -D-maltotriósido (CNP₃) a 2-cloro-4-nitrofenol (CNP) y forma 2-cloro-4-nitrofenil- -Dmaltoside (CNP₂), maltotriosa (G₃) y glucosa (G), según la siguiente reacción:



4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 MUESTRA CLÍNICA

- Suero o plasma
- Orina: Ajustar el pH aproximadamente a 7,0

4.2 MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Micropipeta de 1000 μL
- 1 Micropipeta de 50 μL
- 1 Piseta
- 2 Celdas de plástico de 3 mL
- 5 Tubos de vidrio de 13x100
- Puntas para micropipeta
- Gradilla
- Fotómetro con filtro de lectura de 405nm
- Centrifuga

4.3 SUSTANCIAS Y REACTIVOS

- Muestra problema
- Agua destilada
- Reactivo de Trabajo
- Control Normal y/o Patológico de 1a o 3era opinión

4.4 CONTENIDO DE LOS REACTIVOS

Reactivo de Trabajo

• MES pH 6,0	100 mmol/ L	• Acetato cálcico	6 mmol/ L
• CNPG ₃	2,25 mmol/ L	• Tiocianato potásico	900 mmol/ L
• Cloruro sódico	350 mmol/ L	• Ázida sódica	0,95 g/ L

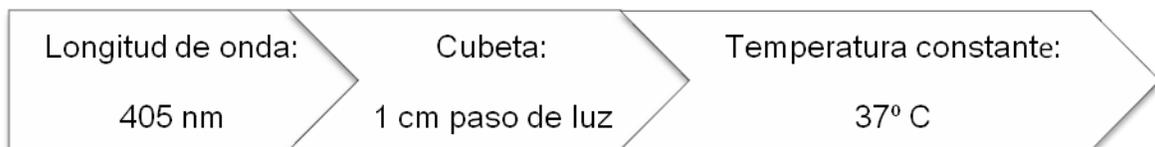
4.5 PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD

Los reactivos de trabajo están listos para usarse y son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, mientras se encuentren en refrigeración (2-8°C)

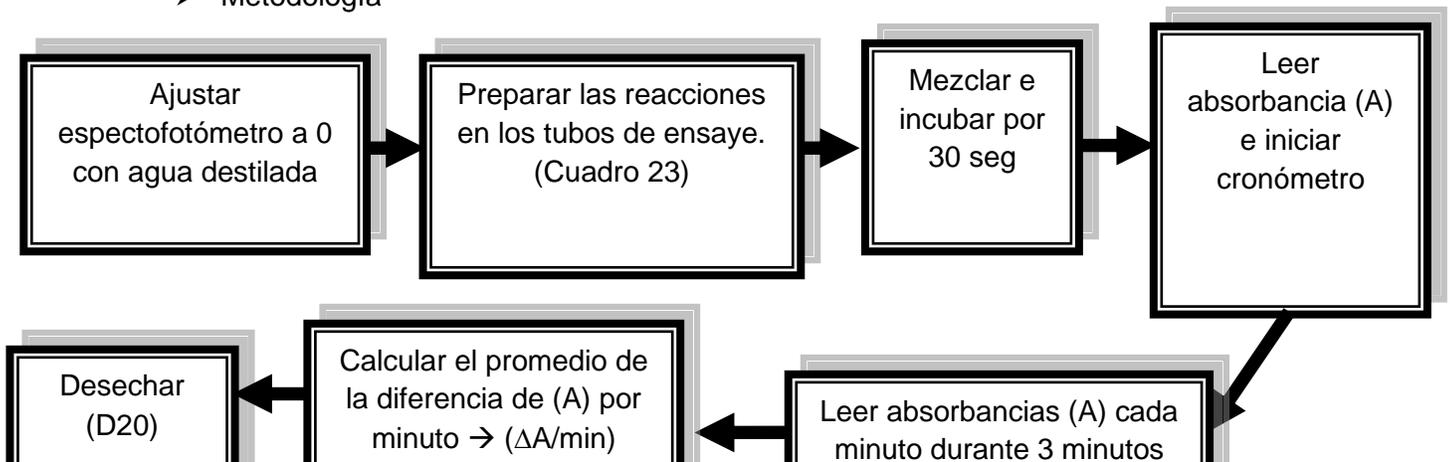
NOTA: La presencia de partículas y turbidez, así como absorbancias del blanco a 405nm mayores o iguales a 0,40 son indicadores del deterioro de los reactivos

5. PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:



- Metodología



Cuadro 23

	Suero o plasma	Orina
R (mL)	1,0	1,0
Muestra (µL)	20	10

CONSIDERACIONES IMPORTANTES E INTERFERENCIAS

- Separar la muestra de los hematíes lo antes posible
- Como anticoagulante se sugiere la heparina
- La α amilasa es temperatura dependiente, por lo que las variaciones de temperatura pueden variar los resultados
- La saliva y el sudor contienen α amilasa, por lo que se debe evitar el contacto de la piel con el reactivo o material empleado

6. CÁLCULOS

- ✓ Suero: $\Delta A / \text{min} \times 3954 = \text{U/L de AMS}$
- ✓ Orina: $\Delta A / \text{min} \times 7908 = \text{U/L de AMS}$

7. VALORES DE REFERENCIA

- ❖ Suero: Hasta 90 U/ L
- ❖ Orina: Hasta 450 U/ L
- ❖

8. MANEJO DE RESIDUOS

El Tiocianato de potasio presente en el reactivo está clasificado como H302 (Nocivo en caso de ingestión), H312 (Nocivo en contacto con la piel), H332 (Nocivo en caso de inhalación) por el reglamento (UE) No. 1272/2008; pero no se encuentra identificado con pictograma de peligro.

Los residuos de dicha práctica deberán depositarse en el contenedor etiquetado como D20- α amilasa, y por ningún motivo en la tarja debido a su ecotoxicidad.

SEMINARIOS

Marcadores tumorales

1. ¿Qué son los marcadores tumorales?
2. ¿La determinación de marcadores tumorales por si solos son útiles en el diagnóstico de cáncer? (Explique Sí o No y ¿Por qué?)
3. Enliste por lo menos 6 marcadores tumorales explicando brevemente para que se utiliza su detección.

ANEXOS

Anexo 1. Tabla de disposición de residuos

Número (D)	Nombre
D1	Ácido Úrico, Glucosa, Colesterol y Triglicéridos
D2	Urea
D3	Creatinina

D4	Sodio
D5	Potasio
D6	Cloruro
D7	Calcio
D8	Fósforo
D9	Magnesio
D10	Bilirrubina
D11	Albúmina
D12	Proteínas Totales
D13	FAL/ALP
D14	GGT
D15	GOT/AST
D16	GPT/ALT
D17	CK
D18	LDH
D19	LPS
D20	AMS

Anexo 2. Cuadro de seguridad para los desechos de los residuos

Categoría	Reactivo	Método	Compuesto que se determina	Color final del compuesto	Salud	Flamable	Inestable	Ecotoxicidad	Sustancia de Alto Riesgo	Productos de descomposición peligrosos	Pictograma	Disposición desechos
S U S T R A T O S	Ácido Úrico	Uricasa- POD Enzimático- colorimétrico	Quinonimina	Rosáceo	No peligroso	No	No	N/D	Azida Sódica	N/A	N/A	Contenedor
	Albúmina	Verde de Bromocreso I (VBC). Colorimétrico	Complejo VBC- Albúmina	Amarillo- verdoso o verde-azulado	No peligroso	No	No	N/D	Azida Sódica	N/A	N/A	Contenedor
	Bilirubina Total y Directa	DMSO. Colorimétrico	Azobilirubina	Rojo-violáceo	Leve (Quemaduras/ lesiones oculares y piel)	No	No	Ecotóxico	Ácido Clorhídrico, ácido sulfanílico	Monóxido y Dióxido de Carbono, Cloruro de Hidrogeno y óxidos de nitrógeno y azufre		Contenedor
	Creatinina	Jaffé. Colorimétrico- Cinético	Complejo creatinina-ácido pírico	Rojo	Leve (Quemaduras/ lesiones oculares y piel)	No	No	No disponible. (evitar liberación al medio ambiente)	R1: Ácido pírico R2: Hidróxido de Sodio	R1: Monóxido de Carbono. Dióxido de Carbono. R2: N/A		Contenedor
	Glucosa	GOD-POD. Líquido (Trinder)	Quinona	Rojo	No peligroso	No	No	N/D	Azida Sódica	N/A	N/A	Contenedor
	Proteínas Totales	Biuret. Colorimétrico	Complejo proteína-cobre	Violeta azulado	Leve (Quemaduras/ lesiones oculares y piel)	No	No	Ecotóxico	Hidróxido de Sodio	Óxidos de Azufre		Contenedor
	Urea	Ureasa- GLDH. Cinético-UV	Disminución de NAD+	Incoloro	No peligroso	No	No	N/D	Azida Sódica	N/A	N/A	Contenedor

Categoría	Reactivo	Método	Compuesto que se determina	Color final del compuesto	Salud	Flamable	Inestable	Ecotoxicidad	Sustancia de Alto Riesgo	Productos de descomposición peligrosos	Pictograma	Disposición desechos
E L E C T R O L I T O S	Calcio	o-Cresolftaleína. Colorimétrico	Complejo O-cresolftaleína-calcio	Magenta-Violeta	R1: No peligroso	No	No	N/D	Azida Sódica	N/A	N/A	Contenedor
					R2: Leve (Quemaduras/ lesiones oculares y piel)	No	No	Ecotóxico	Ácido clorhídrico, Quinolin-8-ol, alcohol isopropílico.	N/A		Contenedor
	Cloruro	Tiocianato-Hg. Colorimétrico	FeSCN	Naranja-Rojo	Leve (Quemaduras/ lesiones oculares y piel)	No	No	Ecotóxico	Ácido nítrico, Ácido Sulfúrico, Tiocianato de Mercurio	N/A		Contenedor
	Reactivo	Método	Compuesto que se determina	Color final del compuesto	Salud	Flamable	Inestable	Ecotoxicidad	Sustancia de Alto Riesgo	Productos de descomposición peligrosos	Pictograma	Disposición desechos
	Fósforo	Fosfomolibdato-UV	Compuesto fosfomolibdico-amónico (medio ácido)	Amarillo	Leve (Quemaduras/ lesiones oculares y piel)	No	No	N/D	Ácido Sulfúrico, Tritón X-100	Óxidos de Azufre, Monóxido y Dióxido de Carbono.		Contenedor
	Magnesio	Azul de Xilidil. Colorimétrico	Complejo Mg-Magón Sulfonado	Rosa	Leve (Quemaduras/ lesiones oculares y piel)	No	No	Ecotóxico	Azida Sódica, Triton X-100	N/A		Contenedor
	Potasio	UV Test	Oxidación de NADH	Incoloro	No peligroso	No	No	N/D	Azida Sódica	N/A	N/A	Contenedor
Sodio	Enzimático Colorimétrico	o-nitrofenil	Incoloro	No peligroso	No	No	N/D	Azida Sódica	N/A	N/A	Contenedor	
Categoría	Reactivo	Método	Compuesto que se determina	Color final del compuest	Salud	Flamable	Inestable	Ecotoxicidad	Sustancia de Alto Riesgo	Productos de descomposición peligrosos	Pictograma	Disposición desechos
L I P I D O S	Colesterol	CHOD-POD. Enzimático Colorimétrico	Quinonimina	Rosáceo	No peligroso	No	No	N/D	N/A	N/A	N/A	Contenedor
	Triglicéridos	GPO-POD. Enzimático Colorimétrico	Quinona	Rojo	No peligroso	No	No	N/D	Azida Sódica	N/A	N/A	Contenedor

Categoría	Reactivo	Método	Compuesto que se determina	Color final del compuesto	Salud	Flamable	Inestable	Ecotoxicidad	Sustancia de Alto Riesgo	Productos de descomposición peligrosos	Pictograma	Disposición desechos	
E N Z I M A S	Fosfatasa Alcalina (ALP)	p-nitrofenil fosfato. Cinético. AMP	p-nitrofenol	Amarillo	No peligroso	No	No	N/D	N/A	N/A		Contenedor	
	GOT (AST)	NADH Cinético-UV	Oxidación de NADH	N/A	No peligroso	No	No	N/D	N/A	N/A	N/A	Contenedor	
	GPT (ALT)	NADH Cinético-UV	Oxidación de NADH	N/A	No peligroso	No	No	N/D	N/A	N/A	N/A	Contenedor	
	GGT	Sustrato carboxilado. Cinético	Ácido 5-amino-2-benzoico	N/A	No peligroso	No	No	N/D	N/A	N/A	N/A	Contenedor	
	LDH	Piruvato. Cinética-UV	Oxidación de NADH	N/A	R1: No peligroso	No	No	N/D	N/A	N/A	N/A	N/A	Contenedor
					R2: Moderado (Perjudica fertilidad o al feto)	No	No	Ecotóxico	Imidazol, Azida sódica.	N/A		Contenedor	
	CK-Na	NAC. Cinética-UV	Formación de NADPH	N/A	R1: No peligroso R2: Moderado (Perjudica fertilidad o al feto)	No	No	Ecotóxico	Imidazol, Azida sódica.	N/A		Contenedor	
	Reactivo	Método	Compuesto que se determina	Color final del compuesto	Salud	Flamable	Inestable	Ecotoxicidad	Sustancia de Alto Riesgo	Productos de descomposición peligrosos	Pictograma	Disposición desechos	
	LPS	Colorimétrico- Cinético	Metilresorufina	N/A	No peligroso	No	No	N/D	Azida Sódica	N/A	N/A	Contenedor	
AMS	CNPG3. Cinético	2-clor-4-nitrofenol	N/A	Moderado (Nocivo en contacto con piel, ingestión o inhalación)	No	No	Ecotóxico	Tiocianato de Potasio	N/A	N/A	Contenedor		



"Materias corrosivas"



"Toxicidad aguda"



"Riesgo mutagenico";
"Peligro para la reproducción"

"N/A --> No aplica"

"N/D --> No determinado"

GLOSARIO

- Acidosis: pH del fluido corporal anormalmente bajo.
 - Respiratoria: causada por una PCO_2 anormalmente alta
 - Metabólica-causada por una concentración de bicarbonato anormalmente baja.
- Adipsia: Ausencia de sed.
- Aditivo: Sustancia química que al añadirse a una muestra causa uno o más cambios en sus propiedades físicas o químicas.
- Adsorber: Acoplamiento de una sustancia química a una superficie sólida.
- Aerosol: Una fina niebla producida por la atomización de un líquido.
- Agua corporal total (ACT): Toda el agua contenida en el cuerpo, tanto dentro como fuera de las células, incluyendo aquellas contenidas en los sistemas gastrointestinal y genito-urinario.
- Agua extracelular (AEC): Agua anatómica; agua externa a las membranas celulares; fisiológica: plasma y agua corporal en la cual pequeños solutos pueden difundirse; excluye la porción transcelular del agua anatómica extracelular; incluye el plasma y el fluido intersticial.
- Agua intracelular (AIC): Agua contenida en las células del cuerpo; agua dentro de las membranas celulares.
- Agua libre: Agua que no contiene soluto
- Agua transcelular: La porción de agua extracelular que está rodeada por una membrana epitelial, cuyo volumen y composición se determinan por la actividad celular de esa membrana.
- Alcalosis: pH del fluido corporal anormalmente alto
 - Respiratoria: causada por una PCO_2 anormalmente baja
 - Metabólica: causada por una concentración de bicarbonato anormalmente alta.
- Albuminuria: Incremento en la concentración de albúmina en la orina.
- Aldosterona: Hormona mineralocorticoide secretada por la corteza adrenal que influye en el metabolismo del sodio y el potasio.
- Alícuota: Una pequeña parte de una determinada muestra, la cual tiene la misma composición química.
- Aminoaciduria: Exceso de uno o más aminoácidos en la orina.
- Análisis bicromático: Monitoreo espectrofotométrico de una reacción a dos longitudes de onda. Usado para corregir el color de fondo.
- Análisis cinético: Análisis en el cual el cambio del parámetro que se está controlando con respecto al tiempo está relacionado con la concentración, como el cambio de absorbancia por minuto. Las mediciones son hechas muy tempranamente en el período de reacción.
- Análisis húmedo de orina: Prueba de tamizaje de la orina que combina una valoración fisicoquímica y un examen del sedimento urinario en una preparación húmeda no coloreada.
- Análisis de orina por tira húmeda: Examen químico de la orina empleando tiras reactivas de prueba para la determinación de albúmina, glucosa, cetonas, bilirrubina, hemoglobina, bacterias, leucocitos, y otros constituyentes químicos.
- Análisis de punto final: Monitoreo de una reacción después de que ésta se ha completado esencialmente.
- Análisis por tira reactiva: Uso de tiras de prueba conteniendo reactivos químicos para determinar si hay concentraciones patológicas de diversas sustancias en la orina.
- Anastamosis: Conexión de dos vasos sanguíneos.

- Angiogénesis: Una complicación de la diabetes mellitus. Proliferación anormal de los vasos sanguíneos en un tejido tal como las lentes del ojo.
- Angiopatía: Una complicación de la diabetes mellitus que se manifiesta como un daño en las membranas basales de los vasos sanguíneos.
- Angiotensina: Polipéptido vasopresor producido por la acción enzimática de la renina sobre el angiotensinógeno. Una enzima convertidora del pulmón extrae dos aminoácidos C-terminales del decapeptido inactivo angiotensina I para formar el octapéptido biológicamente activo angiotensina II.
- ANSI (American National Standard Institute); Miembro de la organización internacional para la estandarización.
- Anticoagulante: Una sustancia que puede suprimir, retrasar o evitar la coagulación de la sangre impidiendo la formación de fibrina.
- Anticuerpos de las células de los islotes (ACI): Anticuerpos frecuentemente encontrados en la diabetes tipo I que sugieren un origen autoinmune.
- Antiséptico: Sustancia química la cual reduce el número de bacterias.
- Arterial: Relacionado con o derivado de las arterias, los vasos que conducen sangre del corazón a los tejidos del cuerpo.
- Bacteriuria: Presencia de bacterias en la orina.
- Bilirrubinuria: Presencia de bilirrubina en la orina.
- Blanco de muestra: Muestra más diluyente; usada para corregir la absorbancia de la mezcla completa de reacción para el color endógeno de la muestra.
- Blanco de reactivo: La mezcla de reacción menos la muestra: usado para restar el color del reactivo endógeno de la absorbancia de la reacción completa (más la muestra).
- Cálculos: Concreciones anormales, usualmente compuestos de sales, presentes en el sistema urinario u otros tejidos; una piedra renal.
- Capilar: Relacionado con un vaso sanguíneo muy delgado en los tejidos donde los nutrientes son depositados y los productos de desecho son removidos por la sangre.
- Catéter: Un tubo de hule o plástico que conecta una cavidad del cuerpo con la superficie del cuerpo.
- Cateterización: Inserción de un instrumento delgado, flexible y tubular en la vejiga o uréter para obtener o sacar orina.
- Células pálidas: Neutrófilos de tinción tenue, hinchados y degenerados, que se encuentran en la orina diluida, los cuales tienen gránulos citoplasmáticos que presentan un movimiento browniano característico.
- Cetoacidosis diabética: Una complicación de la diabetes mellitus caracterizada por hiperglucemia, hiperosmolaridad, pH bajo, cetonuria y cetonemia, y letargo o coma.
- Cetona: Cualquier compuesto que contiene un grupo carbonilo -CO- y grupos de hidrocarburos unidos al carbono del grupo carbonilo.
- Cetonemia: Exceso en la sangre, de cetonas y de derivados de cetoácidos.
- Cetonuria: Exceso en la orina, de cetonas y de cetoácidos derivados. Presencia de cetonas en la orina, las cuales son un producto intermedio del metabolismo de las grasas, como ocurre en la diabetes mellitus.
- Cilindros: Estructura cilíndrica formada como resultado de conglutinación de células y precipitación de proteínas en el lumen de los túbulos convolucionados distales y ductos colectores del nefrón, los cuales son expulsados en el sedimento urinario.
 - Cilindros hialinos: Cilindros transparentes formados de mucoproteína.
 - Cilindruria: Presencia de cilindros en la orina.
- Cirrosis.: Enfermedad progresiva del hígado caracterizada por el daño a las células del parénquima hepático.

- Citodiagnóstico de orina: Análisis especializado de orina que combina una valoración fisicoquímica y un examen del sedimento urinario concentrado teñido para Papanicolaou.
- CLIA o CLIA'88: La Reforma para el Mejoramiento de los Laboratorios Clínicos (CLIA'88 por sus siglas en inglés), reglamenta el funcionamiento de los laboratorios clínicos en los Estados Unidos. Esta ley se interpreta mediante regulaciones administrativas desarrolladas por organizaciones certificadoras.
- Coágulo: Agregación de células sanguíneas unidas por fibrina, una proteína polimerizada.
- Coma no cetósico heperglucémico hiperosmolar (CNHH): Una complicación de la diabetes mellitus caracterizada por hiperglucemia, heperosmolaridad, pH bajo, niveles normales de cetoácidos y letargo o coma.
- Control de la calidad externo: Programa en el cual una institución externa provee muestras desconocidas para su análisis. Los resultados son emitidos a los laboratorios participantes con una evaluación de rendimiento: "aceptable o no aceptable". En el CLIA'88 este proceso se conoce con el nombre de ensayos de aptitud.
- Control de calidad interno: Programa analítico que verifica la aceptabilidad y estabilidad de los resultados del laboratorio, mediante la utilización de muestras controles.
- Corrección de Allen: Análisis multicromático de una reacción para corregir la absorbancia de fondo. Además de la Amax (absorbancia máxima) del cromóforo, se monitorean dos longitudes de onda para restar la absorbancia de fondo promedio.
- Cristales amorfos: Precipitado de sales no cristalino, granular, sin importancia patológica.
- Desviación estándar usual (DEU): Es el promedio de los valores de las desviaciones estándar de 3 a 6 meses, basados en datos consecutivos de control de calidad. Es un estimado de la precisión, que un sistema analítico es capaz de alcanzar.
- Desviación estándar (DE): Es un indicador descriptivo de la extensión de la dispersión de una población de resultados de ensayos o de un conjunto de datos.
- Desviación estándar mensual: Desviación estándar calculada con los valores de control de la calidad diarios durante un mes.
- Diabetes insípida: Excreción crónica de grandes cantidades de orina hipoosmótica causada por la incapacidad de concentrar la orina debido a la carencia de la producción, secreción o efecto de la hormona antidiurética, HAD.
- Diabetes estacional: Intolerancia a la glucosa que ocurre en algunos embarazos.
- Diferencia significativa: Aquella que se demuestra estadísticamente que está más allá del límite de variabilidad esperado; clínicamente es una diferencia suficientemente grande para influir en una decisión médica; operacionalmente es una diferencia estadísticamente significativa que el personal que realiza el ensayo y los supervisores consideran suficientemente grande para requerir una investigación.
- Disacárido: Dos monosacáridos ligados por una unión glucosídica.
- Diurético: Un agente que promueve la producción de orina.
- EDTA.: Ácido etilendiaminotetraacético, es un agente quelante de calcio, de uso común. Actúa como anticoagulante y preservativo, uniendo calcio y otros cationes. Por sus propiedades quelantes, es capaz de inactivar varias enzimas necesarias para la formación del coágulo y para la degradación de proteínas y lípidos en sangre.
- Eritrocituria: Presencia de eritrocitos en orina.

- Eritrocituria dismórfica: Presencia de fragmentos de eritrocitos en el sedimento de orina indicativos de hematuria renal (glomerular y tubular).
- Estándar primario: Sustancias químicas de la más alta pureza conocida, que pueden ser usadas para producir calibradores para sistemas analíticos.
- Estasis: Una disminución en el flujo de sangre en una parte del cuerpo.
- Evaporación: Transformación de agua en vapor
- Extracelular: Fuera de las células.
- Flebotomía: Punción de una vena con una aguja con el propósito de obtener una muestra de sangre.
- Fluido intersticial (FI): Agua extravascular, extracelular.
- Fuera de control: Condición en la cual un sistema de análisis es rechazado para ser utilizado en la atención de los pacientes, debido a los resultados de control de la calidad o a otros indicadores. Esta circunstancia debe ser declarada formalmente por el director del laboratorio o por el supervisor técnico.
- Funguria: Presencia de hongos en la orina.
- Glucolítico: Relacionado con el proceso del metabolismo de la glucosa.
- Gluconeogénesis: Producción de glucosa a partir de ácido pirúvico.
- Glucosa: Un aldehído polihidroxílico de seis carbonos; fuente principal de energía en los organismos. Su metabolismo produce adenosín trifosfato.
- Glucosilación: Reacción en la cual la glucosa se une covalentemente a la proteína.
- Glucosuria: Cantidades excesivas de glucosa urinaria.
- Gravedad específica: El peso de una sustancia comparada con un volumen igual de otra sustancia tomada como estándar.
- Grupo semejante: Cuando se utiliza en programas de control externo, indica el grupo de laboratorios que utilizan métodos iguales o similares.
- HDL: Lipoproteínas de alta densidad. Estos complejos lipo-proteicos se llaman también alfa-lipoproteínas y son las más densas de las lipoproteínas. Su acrónimo más usado es HDL por "High-Density Lipoprotein." Hematuria. Presencia de sangre en la orina.
- Hemoconcentración: El proceso de incremento en la concentración de las células, proteínas y ocasionalmente otros compuestos analizados en sangre a través de la pérdida de agua, ya sea in vitro o in vivo.
- Hemoglobinuria: Presencia de hemoglobina libre en la orina.
- Hemólisis: Ruptura de glóbulos rojos, liberando al suero o plasma los contenidos en ellos.
- Heparina: Un anticoagulante el cual inhibe directamente la formación de fibrina.
- Hidrómetro: Instrumento empleado en medir la gravedad específica de un fluido.
- Hiperaldosteronismo: Trastorno causado por la secreción excesiva de aldosterona y caracterizada por alcalosis hipopotasémica, debilidad muscular, hipertensión, poliuria, polidipsia y concentraciones normales o elevadas de sodio plasmático.
- Hipercloremia: Concentración anormalmente alta de cloruro plasmático.
- Hipernatremia: Concentración anormalmente alta de sodio plasmático.
- Hiperosmótica: Que denota una presión osmótica efectiva mayor que la del plasma.
- Hiperpotasemia: Concentración anormalmente alta de potasio plasmático.
- Hipertónica: Que denota una presión osmótica teórica mayor que la del plasma.
- Hiponatremia: Una concentración anormalmente baja de sodio plasmático; por dilución: hiponatremia causada por un exceso de agua (con respecto al sodio) en el compartimento extracelular.
- Hipopotasemia: Concentración anormalmente baja de cloruro plasmático.

- Hiposmótico: Que denota una presión osmótica efectiva menor que la del plasma.
- Hipotónico: Que denota una presión osmótica teórica menor que la del plasma.
- Hormona antidiurética (HAD): Hormona peptídica de la neurohipófisis que actúa en el túbulo colector del riñón para permitir un incremento de la reabsorción de agua y por lo tanto una disminución de la excreción de agua libre por el riñón. También se conoce como vasopresina.
- Ictericia: Referente al color anaranjado impartido a la muestra debido a la presencia de bilirrubina.
- IDL: Lipoproteínas de densidad intermedia. Este complejo lipoproteico tiene una densidad entre VLDL y LDL, es de una vida media relativamente corta y en la sangre de una persona sana están en muy bajas concentraciones. En personas con disbetalipoproteinemia su concentración en sangre es elevada. Su acrónimo más usado es IDL por "Intermediate-Density Lipoprotein."
- Infradiano: Cambios en la concentración de compuestos analizados que ocurren con menos frecuencia que una vez al día.
- Interferente: Cualquier fenómeno químico o físico que pueda interferir o detener una reacción o proceso.
- Intraindividual: Dentro de una sola persona.
- Intravenoso: Dentro de una vena; generalmente se refiere a los fluidos intravenosos, en donde el agua contiene medicamentos, glucosa, o electrolitos que son administrados a un paciente a través de un catéter insertado en una vena.
- In Vitro: Literalmente, en vidrio; ocurre en una situación artificial, como en un tubo de ensaye.
- In vivo: Ocurre en un organismo vivo.
- LDL: Lipoproteínas de baja densidad. Este complejo lipoproteico es también llamado beta-lipoproteína y es el producto final del catabolismo de la VLDL. Es el mayor transportador del colesterol. Su acrónimo más usado es LDL por "LowDensity Lipoprotein."
- Levadura: Microorganismo unicelular nucleado que se reproduce por gemación.
- Límites de acción: Rangos de valores establecidos para las mezclas de control de calidad. Si los resultados están por fuera de estos límites puede existir un deterioro en la calidad de los sistemas analíticos, que debe ser investigado por el técnico.
- Límites de control: Límites numéricos, (expresados en las unidades de los ensayos), dentro de los cuales deben hallarse los valores de una muestra de control, para que el ensayo pueda ser considerado válido o dentro de control.
- Lipemia: Presencia de partículas de lípidos (generalmente lipoproteínas de muy baja densidad) en la muestra, que le dan a la muestra un aspecto turbio.
- Lipoproteínas: Complejo lípido (apoproteína)-proteína correspondiente a unas familias de macromoléculas con conocidas propiedades físicas químicas y fisiológicas conocidas.
- Materiales de referencia certificados (MRC): Un material de referencia, que tiene uno o más de sus valores garantizados por un procedimiento válido. Está acompañado o respaldado por un documento expedido por un organismo certificador. El material tiene una alta pureza del componente especificado.
- Método: El principio metodológico usado en la elaboración de un ensayo: el fundamento químico o físico del mismo.
- Método de referencia: Un método investigado profundamente, en el cual se da una descripción precisa y clara de los procedimientos y condiciones necesarias para la determinación exacta de uno o más valores. La exactitud y precisión documentadas para el método se corresponden con la utilización del método para evaluar la

exactitud de otros métodos, para medir valores de la misma propiedad, o para asignar valores a materiales de referencia.

- Método definitivo: El método analítico que ha sido sometido a la investigación y evaluación de todas las fuentes de inexactitud incluyendo la inespecificidad. La magnitud de la imprecisión final del método y el sesgo, expresados en la declaración de incertidumbre, son compatibles con el propósito e implementación final del mismo. El valor final de un método definitivo es tomado como “valor verdadero”.
- Mioglobinuria: Presencia de hemoglobina en la orina, esta es una proteína que se combina con el oxígeno de las células musculares.
- Monosacárido: Un aldehído o acetona polihidroxílico tal como la glucosa, fructosa o manosa.
- Nefritis: Inflamación del riñón.
- Neuropatía: Una complicación de la diabetes mellitus atribuida al daño de los glomérulos y capilares asociados con el glomérulo.
- Oliguria: Excreción anormalmente baja de orina, o sea, menor de 400 mL/ día en un adulto.
- Osmol: El número total de moles de un soluto en solución después de su disociación.
- Osmolaridad: Concentración osmótica expresada en osmoles o miliosmoles de soluto por litro de solvente.
- Osmosis: Movimiento de agua a través de una membrana semipermeable de una solución con baja concentración de partículas de soluto a una solución con alta concentración de partículas de soluto.
- Piuria: Cantidad anormal de leucocitos en orina.
- Plasma: La parte líquida de la sangre en el torrente sanguíneo; es una muestra obtenida de sangre mediante la colecta con un anticoagulante, con una centrifugación posterior de la muestra.
- Polidipsia: Consumo excesivo de fluido secundario a una sed extrema; polidipsia psicogénica secundaria a un trastorno psiquiátrico, sin una lesión orgánica demostrable. Un síntoma de la diabetes mellitus.
- Polifagia: Hambre constante. Un síntoma de la diabetes mellitus.
- Polisacárido: Un carbohidrato compuesto de más de dos monosacáridos unidos por puentes glucosídicos.
- Poliuria: Pérdida urinaria excesiva. Un síntoma de la diabetes mellitus.
- Porphirinas: Un grupo de derivados del pirrol libres de hierro o magnesio que se encuentran universalmente en todas las células. Estos compuestos constituyen la base de los pigmentos respiratorios en animales y plantas.
- Postprandial: Después de comer.
- Presión osmótica coloidal: La presión osmótica efectiva del plasma y el fluido intersticial a través del endotelio capilar, mayormente resultante de la presencia de proteína.
- Procedimiento: Grupo de instrucciones para utilizar un método, que genera un resultado analítico.
- Proteinuria: Incremento en la concentración de proteína en la orina.
- Proteólisis: El proceso de degradación de las proteínas, el cual puede ocurrir por reacciones químicas o procesos enzimáticos.
- Pseudohiperpotasemia: Concentración plasmática de potasio anormalmente alta en una muestra obtenida de un paciente, en ausencia de una verdadera elevación de la concentración plasmática de potasio en ese paciente.
- Quelación: El proceso de unión de una molécula orgánica (quelante) con múltiples iones metálicos.

- Quilomicrones: Grandes complejos lipoproteicos formados en el intestino y que tienen una importante función en el transporte de grasas (mayormente triglicéridos dietarios).
- Rechazo falso: Rechazo de una serie porque los resultados de control de la calidad indican un problema analítico que no está realmente presente.
- Rechazo verdadero: Rechazo de una corrida analítica porque los especímenes de control indican que existe un problema real.
- Recuento de Addis: Análisis cuantitativo del sedimento urinario, en el cual se cuantifica el número de eritrocitos, leucocitos y cilindros en un espécimen de orina recolectado en un determinado tiempo.
- Revisión delta: Comparación de la concentración de un compuesto analizado en la muestra de un individuo, con la misma concentración existente en la muestra anterior, de la misma persona.
- Semipermeable: Permeable a ciertas moléculas pero no a otras; generalmente permeable al agua.
- Separador de suero: Un componente mecánico que separa físicamente el suero y las células (los separadores de plasma separan plasma de las células), previniendo los cambios en la concentración de los compuestos analizados séricos debido al metabolismo celular.
- Síndrome de secreción inapropiada de la hormona antidiurética: Conjunto de hallazgos, incluyendo la hipotonicidad del plasma, hiponatremia e hipertonicidad de la orina con excreción continuada de sodio, el cual es producido por una excesiva secreción de HAD y que mejora con la restricción de agua.
- Suero: La parte líquida de la sangre que queda después de que se ha formado un coágulo.
- Tendencia: Cambio gradual en los resultados de las muestras de control de la calidad, que sugiere un problema con el sistema analítico o con el material de control.
- Torniquete: Un dispositivo mecánico (como una banda ancha de hule) usada en la superficie de una extremidad la cual comprime las venas, haciéndolas aparecer más grandes mediante la prevención del retorno de sangre al corazón y pulmones.
- Turbidez: Dispersión de luz en un líquido que contiene partículas suspendidas.
- Ultradiano: Cambios en la concentración de los compuestos analizados los cuales ocurren en un período de tiempo mucho menor que un día.
- Urobilinógeno: Grupo de compuestos incoloros formados por la reducción de la bilirrubina conjugada por la acción de bacterias intestinales. Cerca del 1% del total del urobilinógeno producido pasa a la orina.
- Valor asignado: Es el valor medio, establecido para un compuesto analizado en una mezcla de control de calidad.
- Variabilidad inherente: Los valores de las mediciones repetidas de un mismo material varían alrededor de una media. La desviación estándar mide la magnitud de esta variabilidad.
- Variación cíclica: Cambios en concentración de compuestos analizados los cuales ocurren repetitivamente, en una forma predecible, durante un período dado de tiempo.
- Variación circadiana: Cambios en la concentración de compuestos analizados la cual ocurre durante el transcurso de un día.
- Variación preanalítica: Factores que alteran los resultados de una prueba de laboratorio y que ocurren antes de realizar la prueba.

- Virus: Agente que se autorreplica, consta de una estructura fundamental de ácidos nucleicos encapsulados por una cubierta de proteínas. Este microorganismo puede multiplicarse solamente dentro de las células de su hospedero.
- VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad también llamadas pre-beta lipoproteína.

BIBLIOGRAFÍA

1. Terrés, Arturo. e-al. (2002) Clínica y Laboratorio: Ciencia y Tecnología. 2ª ed. México: Graphimed S.A. de C.V
 2. PRESIDENCIA DE LA REPÚBLICA; CGEA, Guía técnica para la elaboración de manuales de procedimientos; Colección guías técnicas, serie organización y métodos núm. 9.
 3. Anderson. Et-al. (1995). Química Clínica. 1ª ed. México: Interamericana-McGraw-Hill;
 4. Kaplan, A. et-al. (1996). Química Clínica Teoría, análisis y correlación. 3ª ed. México
 5. González, J. et-al. (1998). Bioquímica Clínica; 1ª ed. México: McGraw-Hill;
 6. Examen de sangre. (En línea) : http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/esp_imagepages/10026.htm
 7. Morán, L. (2001). Obtención de muestras sanguíneas de Calidad analítica; 1ª ed. México: Médica Panamericana S.A. de C.V
 8. BECTON, DICKINSON DIAGNOSTICS; BD Vacutainer Order of Draw for Multiple Tube Collections. Internet: www.bd.com/vacutainer.
 9. A.A. Madrid, C.S.C.; Laboratorio Clínico, Manual de Flebotomía. Internet: www.ilustrados.com/documentos/manualflebotomia.doc
 10. Whitehead, T. (1984). Manual, Principios de Control de Calidad (Lab/76.1); Organización Mundial de la Salud; Química Clínica.
 11. Treseler, K. (1998). Laboratorio clínico y pruebas de diagnóstico. 3ª ed. México El manual moderno.
 12. Ayres H. (1970). Análisis Químico Cuantitativo. 2ª ed. México: Harla S.A de C.V.
 13. Flaschka, H. (1984). Química Analítica Cuantitativa. 9ª. ed. México: Continental S.A. de C.V.
 14. Graw, A. et-al. (2003). Bioquímica Clínica; 2a. ed. México: Hamabata.
 15. Bayer; Manual de usuario Rapidchem 744/754.
 16. Graf, L. (1983). Análisis de Orina: Atlas a color; 1ª ed. México: Médica Panamericana S.A;
 17. Althof, H. (2003). Sedimento Urinario. 6ª. ed. México: Médica Panamericana.
- Reglamentos de la facultad
 - Reglamento del Departamento de Bioquímica
 - NOM 007-SSA3-2011 Organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos. Disponible en http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5240925&fecha=27/03/2012
 - NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002, Protección ambiental– Salud ambiental–Residuos Peligrosos Biológico-Infeciosos– Clasificación y especificaciones de manejo. Disponible en http://www.inb.unam.mx/stecnica/nom087_semarnat.pdf
 - NOM-018–STPS-2015-Sistema armonizado para la identificación y comunicación de peligros y riesgos por sustancias químicas peligrosas en los centros de trabajo. . Disponible en <http://www.economia-noms.gob.mx/normas/noms/2010/018stps2015.pdf>

- PROY-NOM-005-STPS-2017, Manejo de sustancias químicas peligrosas o sus mezclas en los centros de trabajo-condiciones y procedimientos de seguridad y salud. . Disponible en http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5487743&fecha=22/06/2017
- NOM - 015-SSA2-2010, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. . Disponible en [http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5168074& fecha=23/11/2010](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5168074&fecha=23/11/2010)
- NOM- 037-SSA2-2012, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias. Disponible en http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5259329&fecha=13/07/2012
- NOM-EC-15189-IMNC-2015, Laboratorios clínicos-requisitos de la calidad y competencia. Disponible en http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5393609&fecha=26/05/2015
- NOM-EC-17025-IMNC-2006. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. Disponible en http://200.57.73.228:75/pqtinformativo/GENERAL/Carpeta_2_Criterios_evaluacion/MP-FE005_Criterios_de_aplicacion_NMX-EC-17025-IMNC-2006_2.pdf
- NOM –EC-9001-IMNC-2015 Requisitos para el sistema de gestión de calidad. Disponible en [http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5430250& fecha=17/03/2016](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5430250&fecha=17/03/2016)
- Normas Internacionales /ISO.
 - ISO 15189:2012, "Medical laboratories Requirements for quality and competence".
 - ISO 9000:2005, Quality management systems-Fundamentals and vocabulary.
 - ISO 9001:2008, Quality management systems-Requirements.
 - ISO 9004:2009 Gestión para el éxito sostenido de una organización — Enfoque de gestión de la calidad.
- NOM-003-SEGOB-2011 Señales y avisos para protección civil.- Colores, formas y símbolos a utilizar. Disponible en http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5226545&fecha=23/12/2011
- NOM-026-STPS-2008 Colores y señales de seguridad e higiene, e identificación de riesgos por fluidos conducidos en tuberías. Disponible en <http://www.stps.gob.mx/bp/secciones/dgsst/normatividad/normas/Nom-026.pdf>
- NOM-027-STPS-2008. Actividades de soldadura y corte-Condiciones de seguridad e higiene. Disponible en <http://www.dof.gob.mx/normasOficiales/3536/stps1/stps1.htm>
- NOM-028 STPS-2012. Sistema para la administración del trabajo-Seguridad en los procesos y equipos críticos que manejen sustancias químicas peligrosas Disponible en <http://asinom.stps.gob.mx:8145/upload/nom/NOM-028-STPS-2012.pdf>
- NOM-78-SSA1-1994 Establece las especificaciones sanitarias de los estándares de calibración utilizados en las mediciones realizadas en los laboratorios de patología clínica. Disponible en <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/078ssa14.html>
- NOM-077-SSA1-1994, Que establece las especificaciones sanitarias de los materiales de control (en general) para laboratorios de patología clínica. Disponible en <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/077ssa14.html>
- NOM -064- SSA1-1993. Establece las especificaciones sanitarias de los equipos de reactivos utilizados para diagnóstico. Disponible en <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/064ssa13.html>
- NOM-178 -SSA1-1998, Que establece los requisitos mínimos de infraestructura y equipamiento de establecimientos para la atención médica de pacientes ambulatorios. Disponible en <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/178ssa18.html>

➤ Insertos de Reactivos de Trabajo SPINREACT

- Para Sustratos consultar el Instructivo de trabajo (BSIS) y Hoja de seguridad (BSSS) en: http://www.spinreact.com/es/productos/bioquimica_clinica/sustratos.html con las siguientes referencias:

	BSIS	BSSS
Ácido Úrico		01
Albúmina		02
Bilirrubina Total y Directa		04
Creatinina		13
Glucosa		17
Proteínas Totales		30
Urea		32

- Para electrolitos consultar el Instructivo de trabajo (BSIS) y Hoja de Seguridad (BSSS) en: http://www.spinreact.com/es/productos/bioquimica_clinica/electrolitos.html con las siguientes referencias:

	BSIS	BSSS
Calcio		07
Cloruro		10
Fósforo		15
Magnesio		79
Potasio		93
Sodio		83

- Para lípidos consultar el Instructivo de trabajo (BSIS) y Hoja de Seguridad (BSSS) en: http://www.spinreact.com/es/productos/bioquimica_clinica/lipidos.html con las siguientes referencias:

	BSIS	BSSS
Colesterol		11
Triglicéridos		31

- Para enzimas consultar el Instructivo de trabajo (BEIS) y Hoja de Seguridad (BESS) en: http://www.spinreact.com/es/productos/bioquimica_clinica/enzimas.html con las siguientes referencias:

	BEIS	BESS
Alfa-amilasa (AMY)		27
Alanina Aminotransferasa (GPT/ALT)		11
Aspartato Aminotransferasa (GOT/AST)		09
Creatin Cinasa (CK-NAC)		02
Gamma Glutamilttransferasa (GGT)		08
Fosfatasa Alcalina		01
Lactato Deshidrogenasa (LDH)		16
Lipasa (LPS)		19