



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES ZARAGOZA



Carrera de Médico Cirujano

Área de Ciencias Biomédicas

Módulos:

La salud de las personas en sus entornos

Crecimiento y desarrollo intrauterino

Parto, puerperio y periodo perinatal

Crecimiento y desarrollo extrauterino

Componente Bioquímica

Fecha de aprobación: 03/08/2023

Vigente hasta: 03/08/2026

MANUAL DE LABORATORIO DE BIOQUÍMICA

Profesores que elaboraron el manual:

Itzen Aguiñiga Sánchez
Maria Antonieta Vargas Pérez
Fernanda Amairani Vargas López
Lucila Álvarez Barrera
Rosa Linares Culebro
Valente Francisco Juárez López
Gabriela Figueroa González
Austasio Raúl Altamirano Aceves
Guadalupe Reyes González
Juan Carlos Trejo Rodríguez
Edgar Iván Torres Corioriles
Claudia Martínez Carrera
Carolina Sauer Ramírez
Luis López Pérez

Fecha de elaboración del Manual de Laboratorio: 15 de marzo del 2023



MISIÓN:

Formar médicos generales poseedores de conocimiento científico y cultura universal para una práctica responsable, competente, ética y humanística que les permita contribuir a la prevención y solución de la problemática de salud del país, dotados de una actitud crítico-creativa, comprometidos con sus actualizaciones profesionales y dispuestos a continuar con estudios de posgrado.

VISIÓN:

Ser una carrera con reconocimiento por sus innovaciones en la formación de médicos generales que participen activamente en el ejercicio de la profesión dentro de la sociedad de la información y el conocimiento. Esto a través de mejoras curriculares, la promoción de la formación docente y la optimización de los recursos disponibles.



CONTENIDO

Introducción	5
Objetivo general del laboratorio	5
Reglamento general de laboratorio	6
Normatividad	6
Consentimiento informado	7
Manejo de residuos biológico-infecciosos	9
Criterios de evaluación	10
Material de laboratorio	11
NOM-087, uso del espectrofotómetro y centrífuga.	19
Toma de muestra sanguínea	24
Osmosis	32
Gasometría arterial	35
Cromatografía de aminoácidos	42
Determinación de urea sérica	47
Determinación de albúmina sérica	51
Determinación de amilasa sérica	55
Determinación de las enzima aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT) séricas	60
Determinación de glucosa sérica	65
Determinación de hemoglobina glicosilada en sangre	70
Determinación de deshidrogenasa láctica sérica	73
Determinación de triglicéridos séricos	77
Determinación de colesterol sérico	82
Determinación de bilirrubinas séricas	87
Determinación de creatinina sérica	90
Determinación de ácido úrico sérico	94
Determinación de grupos sanguíneos	98
Determinación de pruebas cruzadas	102
Examen general de orina	108
Determinación de hemoglobina en sangre	113
Determinación de hematocrito	117
Determinación de fosfatasa ácida sérica	121
Determinación de fosfatasa alcalina sérica	125
Determinación de calcio sérico	129
Determinación de cloro sérico	133



INTRODUCCIÓN

Una de las principales áreas de enseñanza en el plan de estudios de la carrera de Médico Cirujano es la Bioquímica. La formación teórico-práctica de los estudiantes en estas áreas, es esencial ya que le permite estudiar los diversos procesos químicos de los seres vivos desde dos puntos de vista: estructural y funcional. Mediante el primero conocemos la distribución espacial de la materia viva; con el segundo, el papel que juega en el organismo. Para comprender la influencia de la Bioquímica en la Medicina, es preciso conocer los elementos químicos que conforman la materia viva, la estructura de las biomoléculas (proteínas, carbohidratos, lípidos, nucleótidos, vitaminas, etc.), su comportamiento que bajo los principios básicos de la termodinámica se llevan a cabo para que las células logren realizar sus funciones de crecimiento, reproducción, envejecimiento y muerte, con ello entender su función e importancia dentro del cuerpo humano, lo que permite su asociación con diversos procesos fisiopatológicos.

Como parte de los programas académicos que integran la carrera, se elaboró el presente manual de Bioquímica que se imparte en el primer año e integra cuatro módulos del plan de estudios: 1) La Salud de las Personas en sus Entornos, 2) Crecimiento y Desarrollo Intrauterino, 3) Parto, Puerperio y Periodo Perinatal, 4) Crecimiento y Desarrollo Extrauterino. Con el propósito de integrar los conocimientos teóricos con los prácticos, el manual contiene 27 prácticas, 13 corresponden al módulo uno, y 14 a los módulos dos, tres y cuatro.

Los estudiantes mediante el análisis de muestras humanas como orina y sangre procesada con diversas reacciones químicas les permitirá identificar los diferentes procesos metabólicos que sufre el cuerpo humano y correlacionarlo con el estado de salud-enfermedad, lo que le permitirá al profesional Médico su interpretación fisiopatológico, permitiendo ser reconstructores de conocimientos, enfatizando el enfoque de promoción de la salud, prevención de enfermedades y resolución de problemas médicos complejos con una visión no fragmentada, sino integral y transdisciplinar. Facilitando desarrollar habilidades psicosociales para la toma de decisiones y llevar a cabo acciones en los planos individual, familiar, comunitario e institucional.

Objetivo general del laboratorio

Identificar los diversos procesos bioquímicos y metabólicos que se desarrollan en el cuerpo humano encontrando su correlación y relevancia clínica.



Reglamento General de Laboratorio

1. Uso obligatorio de bata.
2. Uso obligatorio de zapato cerrado.
3. No trabajar solo.
4. Trabajar con asesoría continua.
5. Uso obligatorio de identificación.
6. Prohibido fumar.
7. Prohibido usar audífonos.
8. Prohibido consumir bebidas y alimentos.
9. Prohibido correr y jugar dentro de laboratorio.
10. Es obligatorio cumplir con el reglamento interno de cada laboratorio.

Normatividad

Las normas que rigen el buen funcionamiento del laboratorio de Bioquímica del primer año de la Carrera de Médico Cirujano de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza de la UNAM, son:

NORMA Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-1995, Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que presten atención médica.

NORMA Oficial Mexicana NOM-004-SSA3-2012, Del expediente clínico.

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-007-SSA3-2011, Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos



Consentimiento informado

El presente consentimiento informado cumple con los lineamientos establecidos en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de educación médica para la Salud y solo se empleará en las prácticas donde se requieran muestras con fluidos biológicos. Para decidir si participa o no en el laboratorio de Bioquímica, usted debe tener el conocimiento suficiente acerca de los riesgos y beneficios que esto implica, con el fin de tomar una decisión acertada. Este documento le dará información detallada acerca del procedimiento, el cual podrá comentar con su profesor médico o con algún miembro del equipo del laboratorio de Bioquímica. Al terminar de leer este documento se le pedirá que forme parte de la práctica del laboratorio y de ser así, bajo ninguna presión o intimidación, se le invitará a firmar este consentimiento informado.

Invitación a participar y descripción de la práctica.

Estimado alumno(a). _____ La Facultad de Estudios Superiores Zaragoza a través de la Carrera de Médico Cirujano le invita a participar en la práctica _____ que tiene como objetivo _____.

Procedimiento del estudio

Toma de muestra sanguínea:

- 1) Preparar el material para la toma de muestra como son ligadura, torundas con alcohol, jeringa, guantes, tubos con los aditivos correspondientes.
- 2) Colocar al paciente en un lugar y posición cómoda tanto para él como para quién tomará la muestra.
- 3) Localizar la vena más apta para la extracción,
 - a. Esto podrá hacerse mediante palpación solicitando al paciente cierre su puño, o
 - b. Colocando momentáneamente el torniquete para hacer más palpables las venas, una vez localizada y seleccionada retirar el torniquete.
- 4) Limpiar la zona de punción con una torunda humedecida con alcohol isopropílico al 70%, o etanol al 70%. Se comienza en el punto de la punción y se prosigue la limpieza hacia afuera siguiendo un movimiento espiral.
- 5) Se extrae del empaque la jeringa y asegurarse de eliminar el aire que pudiera contener, esto se logra empujando el émbolo hasta el fondo.
- 6) Colocar el torniquete por arriba de la punción unos 10 centímetros.
- 7) Quitar el protector de la aguja y verificar que el bisel se encuentre hacia arriba.
- 8) Se fija la vena por debajo del lugar de punción, con ayuda de los dedos pulgar, índice y medio.
- 9) 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 considerando introducir la aguja con suavidad pero con rapidez.
- 10) Si se ha realizado una buena punción, se observará la sangre en la base de la aguja, de ser así, quitamos el torniquete y jalamos el émbolo suave y continuamente, hasta tener el volumen deseado.



- 11) Colocar una torunda sobre la punción sin presionar, y extraer la aguja.
- 12) Tapar la aguja y quitarla de la jeringa para proceder a vaciarla a los tubos, iniciando con aquél que no tiene anticoagulante y proseguir con los demás.
- 13) Cuidar de vaciar por las paredes sin ejercer mucha presión, pues ello podrá hemolizar la muestra.
- 14) Desechar cada residuo como lo indica la norma.

Riesgos e inconvenientes

El reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la Salud señala que la obtención de muestras biológicas representa un riesgo mínimo dentro de la investigación. Los riesgos de la toma de muestra sanguínea son: posibilidad de sangrado ligero o moretones en el sitio de aplicación. El personal que tendrá esta misión está capacitado para ello, lo que minimiza los riesgos de complicaciones.

Privacidad

Los datos acerca de su identidad y su información médica NO serán revelados en ningún momento como lo estipula la ley, por tanto, en la recolección de datos clínicos, usted no enfrenta riesgos mayores a los relativos a la protección de la confidencialidad la cual será protegida mediante la codificación de sus muestras y de su información.

Beneficios Potenciales

Potenciales beneficios para el paciente o alumno (a). Obtener conocimientos teóricos prácticos a lo largo de la duración del laboratorio de bioquímica, de la Carrera de Médico Cirujano en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

Declaración del paciente o alumna (o).

Yo, _____
declaro que es mi decisión participar en la práctica de laboratorio. Mi participación es voluntaria. He sido informado que puedo negarme a participar o terminar mi participación en cualquier momento de la práctica. Todas las preguntas han sido respondidas a mi satisfacción. He entendido que recibiré una copia firmada de este consentimiento informado.

Nombre del alumno (a). Fecha y firma

Nombre del profesor responsable de la práctica Fecha y firma



Manejo de residuos biológico-infecciosos



El confinamiento de los residuos punzocortantes será de acuerdo a la presente figura, los contenedores rojos deben mantenerse en el área de residuos en la sección roja. Las bolsas rojas y amarillas deben solicitarse al interlaboratorio y en su defecto a la coordinación.



Criterios de evaluación

El laboratorio de Bioquímica del primer año de la Carrera de Médico Cirujano será evaluado bajo los siguientes criterios sugeridos:

	CRITERIO	PORCENTAJE
1	Examen previo	25%
2	Informe de practicas	25%
3	Examen final	50%

Se sugiere que el informe de práctica cumpla con los siguientes criterios y del orden de la rúbrica:

	Criterio	Descripción	Puntaje
1	Carátula	Nombre de la práctica, integrantes del equipo, responsable de la práctica, folio de EVALAB	Obligatorio
2	Título	Anexar el del manual.	Obligatorio
3	Introducción	Máximo una cuartilla donde se describa las generalidades de la práctica	1
4	Objetivos	En infinitivo (Tomarlos del manual).	1
5	Marco teórico	Responderá el cuestionario anexo en cada práctica, con referencias.	1.5
6	Metodología	En modo de diagrama de flujo con dibujos (en las prácticas que lo incluyan).	1
7	Resultados	Por definir en cada práctica. (Dibujos o imágenes, tablas, formulas, de acuerdo a cada práctica). Describir el resultado obtenido.	1.5
8	Discusión	Interpretación clínica de los resultados comparándolo con la literatura.	2
9	Conclusión	Inferencias concretas.	1
10	Referencias bibliográficas	Estilo Vancouver, referenciadas en el marco teórico y discusión	1
		Total	10



Material de laboratorio

Objetivo:

- Identificar el material de laboratorio que empleará en el desarrollo de las prácticas de bioquímica.

Generalidades.

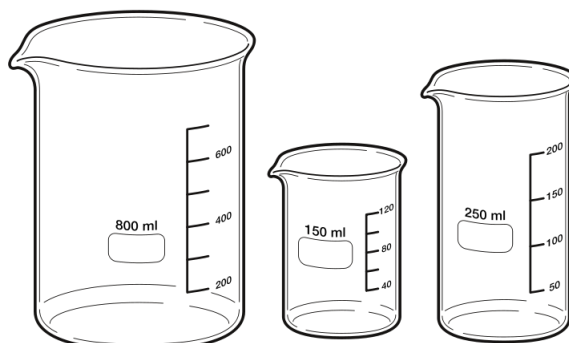
En el laboratorio de Bioquímica es muy común el uso de material de vidrio ya sean tubos de ensayo, vasos de precipitados, pipetas o matraces. De acuerdo a la utilidad y precisión éste se puede clasificar en **Material para Contener** o **Material para Dispensar**. Aquí sólo veremos aquel que frecuentemente se utiliza en este laboratorio.

- **Material para Contener (To Contain → TC):** Este tipo de material agrupa a los recipientes que se emplean para contener o almacenar líquidos, soluciones o productos de reacciones como precipitados o cristales. Algunos pueden ser fabricados para contener volúmenes exactos sin posibilidad de medir volúmenes diversos, a esta categoría pertenecen:
 - Vasos de precipitados
 - Tubos de Ensayo
 - Matraz Erlenmeyer
 - Matraz Aforado
 - Frascos
- **Material para Entregar o Dispensar (To Deliverate → TD):** Este tipo de material se utiliza para medir o transferir volúmenes con cierta precisión, ésta característica está dada en la clasificación del material de acuerdo a la Oficina Nacional de Estándares o patrones de Norteamérica siendo la **Clase A** más exacta por estar certificado, mientras que la **Clase B** es menos exacta. A esta clasificación pertenece:
 - Buretas
 - Pipetas
 - Probetas

Vasos de Precipitados

Son recipientes cilíndricos de vidrio, abiertos en un extremo y el otro cerrado con fondo plano. Son fabricados en diversos tamaños y capacidades con o sin labio o pico de vertido, con o sin graduación. Se llaman vasos de precipitados por qué en un inicio fueron utilizados para llevar a cabo reacciones de precipitaciones, hoy en día se utilizan para contener líquidos, sólidos, realizar reacciones diversas, recipiente para calentar o enfriar.

Generalmente tienen un **5% de tolerancia**, por lo cual no se utiliza para medir volúmenes exactos.



Tubos de Ensayo

Son recipientes cilíndricos cerrados de un solo extremo de manera casi esférica. Se pueden adquirir de diversos tamaños cuyas medidas indican el diámetro y la longitud en milímetros, siempre en este orden, los más comunes son los siguientes:

Tubo	Diámetro (mm)	Longitud (mm)
12x75	12	75
13x100	13	100
18x150	18	150

Los tubos son fabricados con vidrio de borosilicato y pueden utilizarse para efectuar reacciones, calentar, hacer pruebas de solubilidad, pruebas químicas, medios de cultivo, etcétera.

Matraz Aforado

También conocido como **matraz volumétrico**. Posee una forma de pera con un cuello largo y una **marca de aforo**, lo que indica que han sido calibrados para contener un volumen exacto a cierta temperatura. Los volúmenes van desde 5 mililitros hasta 5 litros.



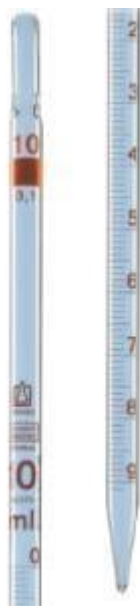
El matraz aforado se utiliza para preparar soluciones estándar o de concentración exacta y para diluir muestras. La tolerancia va de 0.02 a 0.5 mL según la capacidad del matraz, a mayor volumen mayor tolerancia.

Pipetas

*Son tubos de diámetro uniforme o ensanchado con un extremo terminado en punta, pueden estar graduadas o con una sola marca (línea de aforo) de acuerdo a estas diferencias podemos clasificarlas como **Graduadas** y **Volumétricas**.*

*Las **pipetas graduadas** permiten medir volúmenes diferenciales para lo cual tienen una serie de líneas a lo largo de la pipeta, resaltando las unidades del resto. Son fabricadas en diferentes capacidades y precisiones por ejemplo las pipetas de 5 y 10 mL poseen una precisión de 0.1 mL mientras que las de 1 y 2 mL pueden tener una precisión de 0.1 o 0.01 mL.*

*Las pipetas pueden tener la graduación hasta la punta (**pipeta terminal**) o antes (**pipeta subterminal**), la pipeta terminal, también llamada serológica, requiere que le soplen para verter el volumen completo.*



Las pipetas volumétricas poseen una ampolla y marca de aforo que nos indica hasta donde debe llevarse el líquido para tener el volumen exacto, no permite medir volúmenes inferiores a la capacidad de ésta. La tolerancia de estas pipetas van desde 0.006 hasta 0.08 mL.



*Por último, es importante saber que existen pipetas automáticas que nos permiten medir volúmenes más precisos, éstas pueden ser de **volumen fijo** o **volumen variable**.*



Para un uso adecuado se requieren considerar los siguientes aspectos:

- *Conocer los volúmenes mínimo y máximo de la punta intercambiable, en función del color.*
- *Realizar la técnica adecuada para la toma de muestra y su posterior vertido.*
- *Calibración periódica según el tipo y frecuencia de uso.*



Probetas

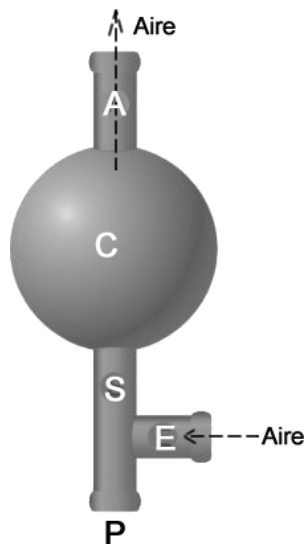
Es un tubo de diámetro uniforme y cerrado por un extremo donde se tiene una base fija o removible, con capacidades que van de 10 mL a 2.0 L, con o sin labio de vertido y tapón. Poseen marcas que permiten verter volúmenes inferiores al total de la probeta.

La exactitud de las probetas es inferior a las pipetas y bureta, por lo que se debe utilizar para preparar soluciones cuya exactitud no sea un factor determinante.



Perilla de Seguridad

*Este tipo de perilla también se conoce como **perilla de tres vías** o **propipeta** y tiene la función de facilitar el uso de las pipetas graduadas y volumétricas mediante la entrada y salida de aire.*



*Figura de una propipeta mostrando las zonas utilizadas; **A** = Aspirate (aspirar); **C** = Zona central; **S** = Suck up (succionar); **E** = Empty (vaciar) y **P** = Pipeta así como el flujo de aire.*

La técnica de uso es la siguiente:

- 1. Se coloca la pipeta, en el extremo **P**.*
- 2. Extraer totalmente el aire de la perilla, para ello presionamos el punto **A** al mismo tiempo que apretamos la parte central (**C**) de la perilla.*
- 3. Subir el líquido presionando la sección **S** hasta el volumen deseado.*
- 4. Para verter el líquido, presionamos **E** hasta haber liberado al recipiente el volumen deseado.*

Además del material de laboratorio antes descrito dentro del laboratorio de bioquímica también se emplearán equipos como balanza de dos platos, centrífuga y espectrofotómetro.



Balanza de dos platos

La balanza de dos platos diseñada para pesaje comparativo.

Las masas deslizantes incorporadas permiten un pesaje muy fácil y rápido.

La amortiguación magnética reduce la oscilación y ayuda a acelerar el pesaje.

La perilla de contrapeso ayuda con una puesta a cero rápida de la balanza mientras que los cojinetes de ágata flotantes ayudan a garantizar resultados precisos.



En el laboratorio de bioquímica clínica este instrumento permite balancear la muestra que será centrifugada, ya que es necesario poner un contrapeso con el mismo peso.

Centrifuga

Una centrifuga de laboratorio es una máquina que pone en rotación una muestra para separar por fuerza centrífuga sus componentes o fases (generalmente una sólida y una líquida), en función de su densidad. Existen diversos tipos de estos, comúnmente para objetivos específicos. Una aplicación típica consiste en acelerar el proceso de sedimentación, dividiendo el plasma y el suero en un proceso de análisis de laboratorio.



Espectrofotómetro

El espectrofotómetro es un instrumento usado en la física óptica que sirve para medir, en función de la longitud de onda, la relación entre valores de una misma magnitud fotométrica relativos a dos haces de radiaciones. También es utilizado en los laboratorios de química para la cuantificación de sustancias y microorganismos.

Hay varios tipos de espectrofotómetros, puede ser de absorción atómica o espectrofotómetro de masa. Este instrumento tiene la capacidad de proyectar un haz de luz monocromática a través de una muestra y medir la cantidad de luz que es absorbida por dicha muestra, lo que permite cuantificar la concentración de una muestra.

Referencias

Moreno, N. P. (2016). *Manual de Prácticas de Bioquímica*. Manual Moderno.



NOM-087, uso del espectrofotómetro y centrífuga.

Objetivos:

- *Identificar los requisitos para el manejo de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan dentro del laboratorio de bioquímica.*
- *Identificar los componentes básicos de un espectrofotómetro, su manejo y cuidados.*
- *Identificar los componentes básicos de la centrífuga y sus cuidados.*

Generalidades

Dentro del laboratorio de bioquímica se realizan tomas de muestra sanguíneas y su análisis a modo de conocer la concentración de muchos analitos como glucosa, triglicéridos, ácido úrico, entre otros; esto con la finalidad de conocer el proceso involucrado en la obtención de los resultados que reporta un laboratorio clínico para posteriormente interpretar y analizar dichos resultados con un enfoque de orientación diagnóstica. Lo anterior conlleva el manejo adecuado de residuos peligrosos biológicos infecciosos, así como de material y equipo de laboratorio.

NOM-087-Ecol-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.

La Norma Oficial Mexicana 087 (NOM-087-Ecol-SSA1-2002) establece la clasificación de los residuos peligrosos biológico-infecciosos, así como las especificaciones para su manejo. Esta NOM es de observancia obligatoria para los establecimientos que generen residuos peligrosos biológico-infecciosos y los prestadores de servicios a terceros que tengan relación directa con los mismos. Los desechos generados deberán ser separados de acuerdo con sus características biológicas y estado físico, tal como se muestra en la siguiente tabla:

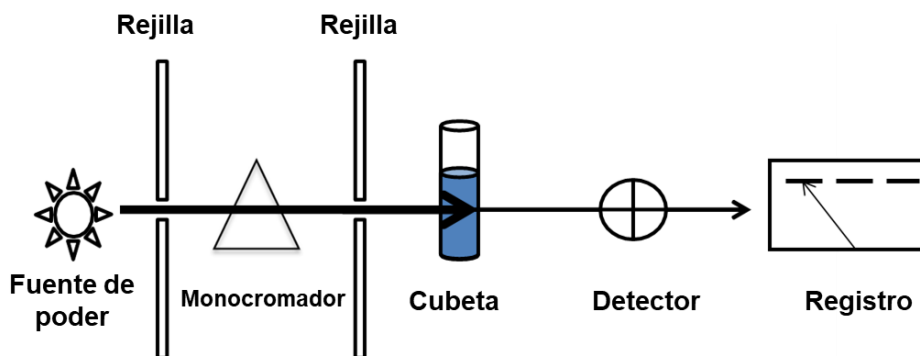


TIPO DE RESIDUOS	ESTADO FÍSICO	ENVASADO	COLOR
Sangre	Líquidos	Recipientes herméticos	Rojo
Cultivos y cepas de agentes Infecciosos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Rojo
Patológicos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Amarillo
	Líquidos	Recipientes herméticos	
Residuos no anatómicos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Rojo
	Líquidos	Recipientes herméticos	
Objetos punzocortantes	Sólidos	Recipientes rígidos Polipropileno	Rojo

Espectrofotómetro

Los espectrofotómetros están constituidos por:

1. *Fuente de luz: La más utilizada para la región visible (360-950 nm) es la lámpara de wolframio y para la región UV (220-360 nm) se emplean las lámparas de descarga de hidrógeno o de deuterio.*
2. *Sistema de selección de longitud de onda (monocromador): Se utiliza para filtrar la longitud de onda requerida para la medición.*
3. *Dispositivo para la celda o cubeta: Son los recipientes donde se colocan las muestras, pueden ser cuadradas, redondas o rectangulares. Se construyen de vidrio, cuarzo o plástico y la distancia entre una pared y la otra suele ser de 1 cm.*
4. *Detector de luz: Convierten la energía radiante en energía eléctrica.*
5. *Registrador: La energía eléctrica procedente del detector, se presenta en una pantalla ya sea de manera analógica o digital.*



Este equipo de laboratorio permite medir la cantidad de luz que al pasar por una muestra es retenida por la misma (Absorbancia) y con ello obtener un dato importante que permita calcular la concentración de un analito como glucosa u otros, gracias a la técnica espectrofotométrica llamada comparación con un estándar, en la que una muestra problema (proveniente de un paciente) es comparada con un estándar o solución de concentración conocida que está hecha con la misma sustancia a determinar.

$$C_m = \frac{A_m}{A_{std}} \times C_{std}$$

Donde:

C_m = Concentración de la muestra (paciente)

A_m = Absorbancia de la muestra (paciente)

A_{std} = Absorbancia del estándar

C_{std} = Concentración del estándar

La espectrofotometría se basa en la ley de Lambert-Beer que relaciona de manera directamente proporcional la Absorbancia, la concentración de una solución y el color si es que la solución presenta, de tal modo que, si un parámetro aumenta, los otros también. Esto ayuda al analizador a inferir si la concentración de una muestra será alta o baja dependiendo de la Absorbancia obtenida, recordando siempre que ésta, está confinada a un rango de 0 a 1.

Centrifuga

La centrifugación es una técnica de separación basada en el movimiento de las partículas impulsadas por una fuerza denominada centrífuga, que tiende a desplazarlas lejos del centro de rotación. Separa las partículas de una muestra, de acuerdo con su masa, su forma, la velocidad y el radio de giro (r), que es la distancia desde el centro de rotación hasta el extremo del recipiente donde está contenida la muestra que se centrifuga. Esta fuerza que se opone a la que tiende a acercar a los objetos al centro de rotación, llamada centrípeta.



Las principales aplicaciones de la centrifugación en laboratorios clínicos son:

- 1. La separación de las células sanguíneas del plasma o suero.*
- 2. La obtención de sedimentos urinarios para su estudio al microscopio.*
- 3. La separación de precipitados y de fases en las extracciones con disolventes orgánicos.*
- 4. La determinación del micro y macrohematocrito.*

Material, reactivos y equipo

Material

- *Cinco tubos de ensaye de 13x100 mm*
- *Dos pipetas de 5 mL*
- *Una perilla de succión*
- *Dos celdas para el espectrofotómetro*
- *Gradilla*
- *Papel milimétrico*

Reactivos.

- *Solución de azul de metileno 10 mg /dL*
- *Agua destilada*

Equipo

- *Espectrofotómetro Genesys 20*

Servicios. *Electricidad y agua.*

Técnica

- *Ajustar el espectrofotómetro a 450 nm*
- *Etiquetar tres tubos de ensaye con los números del 1 al 3.*
- *Etiquetar dos tubos de ensaye con la leyenda Blanco y Problema.*
- *Agregar a cada tubo la cantidad de agua destilada y solución de azul de metileno, según la siguiente tabla:*



Tubo	Tubo				Problema
	Blanco	# 1	# 2	# 3	
Solución de Azul de Metileno (mL)	0	1	2	3	1.5
Agua Destilada (mL)	5	4	3	2	3.5
Volumen final (mL)	5	5	5	5	5

- Una vez realizadas las soluciones, preparar el espectrofotómetro.
- Leer en el espectrofotómetro ajustándolo a 0 de absorbancia y 100% de transmitancia, utilizando el tubo etiquetado como Blanco.
- Leer cada tubo del 1 al 3 incluyendo el problema, anotando los resultados de absorbancia.
- Con los resultados de absorción y concentración de los tubos 1 al 3, construir una curva de estándar en papel milimétrico colocando en las ordenadas la absorción (valores dependientes o Y) y en el eje de las abscisas (independiente o X) la concentración.
- Interpolan la absorción del problema para calcular la concentración.

Cuestionario

1. ¿Qué es un agente biológico infeccioso?
2. Mencione ejemplos de residuos no anatómicos que se generen en el laboratorio de bioquímica
3. Defina espectro electromagnético
4. Defina blanco, patrón o estándar
5. ¿Cuánto tiempo y cuántas rpm se necesitan para separar muestras de sangre y orina?

REFERENCIAS

- Bishop, M., Fody, E., Schoeff, E. (2018). *Química Clínica. Estados (8a Ed.)*. Unidos de América Editorial: Lippincott Wolters Kluwer.
- González, A. (2019). *Principios de bioquímica clínica y patología molecular*. (3er Ed.). Elsevier.
- González, J. M. (2010). *Técnicas y métodos de laboratorio Clínico*. (3er Ed.). Elsevier Masson.
- NOM-087-ECOL-SSA1. (2003, 17 de febrero). *Norma Oficial Mexicana, NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo*. Diario Oficial de la Federación.
<http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/087ecolssa.html>



Toma de muestra sanguínea

Objetivos

- *Aprender la técnica de toma de muestra sanguínea por punción venosa, tomando en consideración todos los cuidados que ésta requiere para obtener una muestra con calidad analítica.*
- *Identificar la importancia clínica que tiene la toma de muestra sanguínea desde el punto de vista calidad de los resultados obtenidos*

Generalidades

En la actualidad la gran mayoría de las determinaciones de laboratorio se realizan en muestras sanguíneas, debido a que en la sangre se presentan las primeras alteraciones en las diferentes enfermedades; por lo tanto siempre se requiere de una adecuada muestra de sangre de calidad analítica.

Existen precauciones estándares para la recolección de muestras sanguíneas, considerando que todas las muestras deben tratarse como infecciosas para patógenos por sangre (virus de la hepatitis B, C y virus de la inmunodeficiencia humana HIV, entre otras).

Los patógenos transmitidos por la sangre pueden entrar al torrente sanguíneo por medio de una lesión accidental con un objeto punzocortante, como una aguja, un bisturí o cualquier otro elemento que perfora la piel. Los cortes, las abrasiones de la piel e incluso de las membranas mucosas de la boca, los ojos y la nariz pueden actuar como puerta de entrada.

El médico se debe lavar las manos con agua y jabón entre paciente y paciente, y desechar los guantes cada ocasión.

Algunos factores fisiológicos específicos del paciente pueden afectar los resultados de las pruebas de laboratorio. Entre ellos se incluyen la posición (supina o erecta), el ritmo circadiano (día o noche), el ejercicio, el estrés (ayuno o falta de él) y el hábito de fumar entre otros. Por consiguiente es importante que el flebotomista registre el momento de la recolección.

*La manera más común de recolección de las muestras de sangre es el empleo de un sistema de tubo de vacío, siendo el más popular el **Vacutainer®**. En estos sistemas, los tubos son de plástico y contienen una cantidad preestablecida de un aditivo sellado al vacío, existen diversas presentaciones respecto al volumen.*

La extracción de sangre por vacío es la técnica de extracción de sangre venosa recomendada por el CLSI (antes NCCLS) en la actualidad y deben respetarse el siguiente orden para su obtención:



Orden de toma para recolección de sangre venosa

Tapón	Contenido de tubo	Área de uso	Inversiones
	Hemocultivo	Microbiología	5 veces
	Citrato de sodio	Coagulación (Tiempos de coagulación fibrinógeno, y agregación plaquetaria)	3 a 4 veces
	Gel separador	Química clínica	5 veces
	Sin anticoagulante, con activador de coagulación, con silicón	Química clínica, banco de sangre serología	8 a 10 veces
	Gel separador y trombina	Obtención de suero rápido	5 a 6 veces
	Gel separador y heparina de litio	Química clínica en plasma	5 veces
	Heparina de sodio/litio	Química clínica (urgencias) hematología (fragilidad osmótica)	8 a 10 veces
	EDTAK ₂	Hematología, banco de sangre	8 a 10 veces
	Gel separador y EDTAK ₂	Determinaciones de carga viral	8 a 10 veces
	Oxalato de Potasio/NaF	Química clínica, pruebas de lactato y glucosa	8 veces

Fuente: *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) – H3-A6 - Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard- Sixth Edition*, recomendaciones para tubos de plástico.

La solución limpiadora de la piel más común es el alcohol isopropílico al 70%, puede aplicarse con una torunda embebida, en el sitio debe realizarse la asepsia con movimientos circulares desde el centro hacia afuera. Es importante que el área se seque al aire antes de efectuar la venopunción.



Material, reactivos y equipo

Material:

- Una Jeringa de 3 mL,
- Torundas
- Un tubo Vacutainer
- Una camisa para Vacutainer
- Una ligadura
- Una aguja para Vacutainer
- Tres pares de guantes

Reactivos. Isopropanol o etanol al 70%

Equipo. No Aplica

Servicios. Electricidad y agua.

Técnica

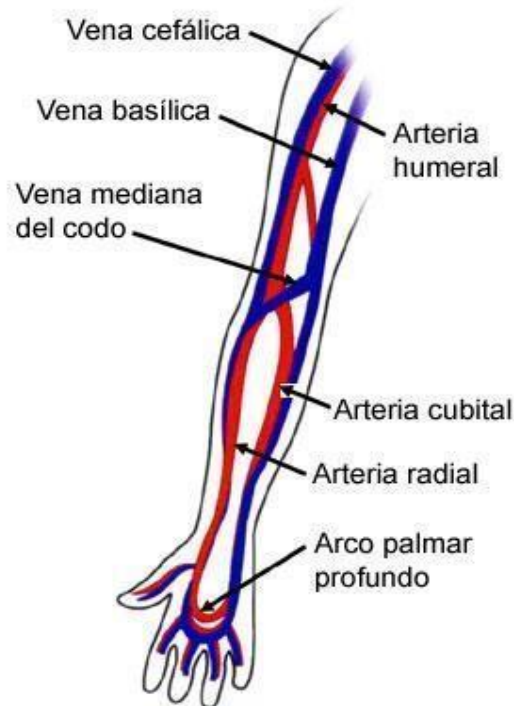
Venopunción

Las venas superficiales de la cara anterior del antebrazo son las más comunes para la venopunción. Las tres venas principales que se utilizan son:

- 1) vena cefálica, ubicada en la parte superior del antebrazo y del lado del pulgar de la mano;
- 2) vena basílica, ubicada en la parte inferior del antebrazo y del lado del dedo meñique de la mano;
y
- 3) vena cubital mediana, que conecta las venas basílica y cefálica en la fosa antecubital (flexión del codo) y es la vena de primera elección.



Si el paciente aprieta el puño después de aplicar el torniquete, la vena se torna más prominente. El sujeto no debe de realizar movimientos de bombeo con el puño, ya que puede afectar algunos de los valores a analizar. El médico debe palpar (examinar mediante el tacto) la vena con su dedo índice para determinar la profundidad, la dirección y el diámetro. Si en ninguno de los brazos se puede hallar la vena, se examinan las venas en el lado dorsal de la muñeca, la mano o el pie.



Fuente: http://www.texasheart.org/HIC/Anatomy_Esp/arm_sp.cfm

Utilizando Jeringa

- 1) Preparar el material para la toma de muestra como son ligadura, torundas con alcohol, jeringa, guantes, tubos con los aditivos correspondientes.
- 2) Colocar al paciente en un lugar y posición cómoda tanto para él como para quién tomará la muestra.
- 3) Localizar la vena más apta para la extracción,
 - a. Esto podrá hacerse mediante palpación solicitando al paciente cierre su puño, o
 - b. Colocando momentáneamente el torniquete para hacer más palpables las venas, una vez localizada y seleccionada retirar el torniquete.



- 4) *Limpiar la zona de punción con una torunda humedecida con alcohol isopropílico al 70%, o etanol al 70%. Se comienza en el punto de la punción y se prosigue la limpieza hacia afuera siguiendo un movimiento espiral.*
- 5) *Se extrae del empaque la jeringa y asegurarse de eliminar el aire que pudiera contener, esto se logra empujando el émbolo hasta el fondo.*
- 6) *Colocar el torniquete por arriba de la punción unos 10 centímetros.*
- 7) *Quitar el protector de la aguja y verificar que el bisel se encuentre hacia arriba.*
- 8) *Se fija la vena por debajo del lugar de punción, con ayuda de los dedos pulgar, índice y medio.*
- 9) *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 considerando introducir la aguja con suavidad pero con rapidez.*
- 10) *Si se ha realizado una buena punción, se observará la sangre en la base de la aguja, de ser así, quitamos el torniquete y jalamos el émbolo suave y continuamente, hasta tener el volumen deseado.*
- 11) *Colocar una torunda sobre la punción sin presionar, y extraer la aguja.*
- 12) *Tapar la aguja y quitarla de la jeringa para proceder a vaciarla a los tubos, iniciando con aquél que no tiene anticoagulante y proseguir con los demás.*
- 13) *Cuidar de vaciar por las paredes sin ejercer mucha presión, pues ello podrá hemolizar la muestra.*
- 14) *Desechar cada residuo como lo indica la norma.*



En la toma de muestra con jeringa, no olvidar la relación que debe guardar entre el anticoagulante y la muestra, de tal manera que no haya un exceso que diluya la muestra o, por el contrario, exista tan poco que se formen coágulos.



Utilizando Sistemas al Vacío o Vacutainer

- 1) Preparar el material para la toma de muestra como son ligadura, torundas con alcohol, agujas, tubos al vacío, soporte para tubos y guantes.
- 2) Colocar al paciente en un lugar y posición cómoda tanto para él como para quién tomará la muestra.
- 3) Localizar la vena más apta para la extracción,
 - a. Esto podrá hacerse mediante palpación solicitando al paciente cierre su puño, o
 - b. Colocando momentáneamente el torniquete para hacer más palpables las venas, una vez localizada y seleccionada retirar el torniquete.
- 4) Limpiar la zona de punción con una torunda humedecida con alcohol **isopropílico al 70%, o etanol al 70%**. Se comienza en el punto de la punción y se prosigue la limpieza hacia afuera siguiendo un movimiento espiral.
- 5) Colocar la aguja en el soporte del sistema al vacío, dejando la aguja protegida para evitar accidentes.
- 6) Colocar el torniquete por arriba de la punción unos 10 centímetros.
- 7) Quitar el protector de la aguja y verificar que el bisel se encuentre hacia arriba.
- 8) Se fija la vena por debajo del lugar de punción, con ayuda de los dedos pulgar, índice y medio.
- 9) 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 considerando introducir la aguja con suavidad pero con rapidez.

Sujetar firmemente el soporte y el brazo para evitar que se salga o lastimemos al paciente. Complicaciones más frecuentes en la recolección de la muestra sanguínea.

- Equimosis (contusión)
- Síncope (desmayo)
- Hematoma
- Habilidad del flebotomista
- Petequias
- Edema
- Obesidad
- Tratamiento intravenoso
- Hemoconcentración
- Hemólisis
- Venas quemadas, dañadas con cicatrices y ocluidas
- Convulsiones, temblores
- Vómitos, ahogo
- Alergias

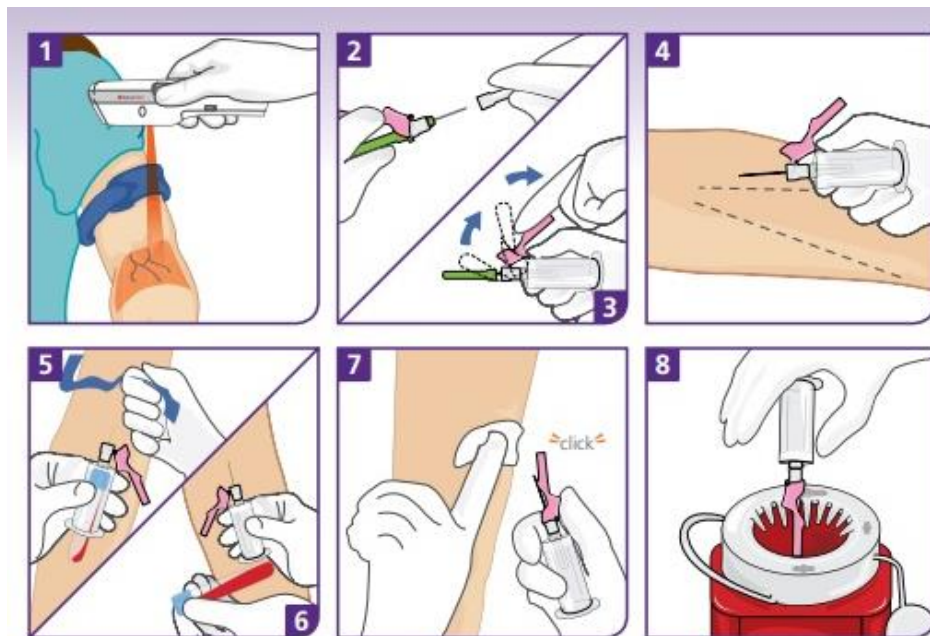
10) Quitamos el torniquete y procedemos a introducir el tubo al vacío que corresponda según el tipo de estudio, al hacer el cambio tener cuidado de seguir manteniendo firme el soporte y brazo.

11) A medida que vaya ingresando la sangre al tubo, girar el tubo para hacer que la sangre entre en contacto con el aditivo.

12) Colocar una torunda sobre la punción sin presionar, y extraer la aguja.

13) Eliminar la aguja en el contenedor para punzocortantes.

14) Desechar cada residuo como lo indica la norma.



<https://www.labnovamty.mx/index.php/calidad/toma-de-muestras.html>

Requisitos para una muestra de calidad.

- Identificación apropiada del paciente
- Preparación adecuada del paciente
- Muestras recolectadas en el orden correcto y rotulado de manera apropiada
- Uso adecuado de los anticoagulantes y conservadores
- Muestras no hemolizadas
- Ayuno correcto



Razones para el rechazo de la muestra

- *No concuerda la orden de solicitud y la identificación del tubo.*
- *El tubo está sin rotular, el número de identificación del paciente es incorrecto.*
- *La muestra está hemolizada.*
- *La muestra se recolectó en un momento erróneo.*
- *La muestra se recolectó en un tubo erróneo.*
- *La muestra presenta coágulos y la prueba requiere sangre entera.*
- *La muestra estaba contaminada con líquido intravenoso.*
- *La muestra está lipémica.*

Resultados

Interpretación de la muestra obtenida

Cuestionario

1. *¿Cuál es la vena de elección para realizar la venopunción?*
2. *¿Cuál es el orden recomendado de los tubos para la extracción cuando se utiliza el sistema Vacutainer?*
3. *¿Cuáles son los sitios recomendados para la punción cutánea en pacientes lactantes?*
4. *¿Cuál es el anticoagulante recomendado para la obtención de muestras de Hematología?*
5. *¿Cuál es la función del torniquete?*

Referencias

- NOM-087-ECOL-SSA1. (2003, 17 de febrero). *Norma Oficial Mexicana, NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo*. Diario Oficial. <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/087ecolssa.html>
- Vives, J. L. (2014). *Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología*. (4a. Ed.). ELSEVIER.

Osmosis

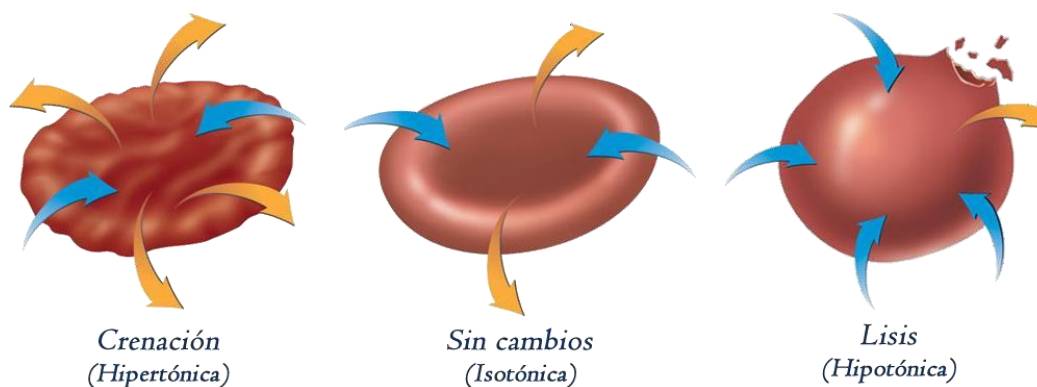
Objetivo

- Identificar el comportamiento de la membrana de los eritrocitos al colocarlos en soluciones hipotónicas, isotónicas e hipertónicas de cloruro de sodio como base para entender el proceso osmótico.

Generalidades

Las células dentro del organismo están sometidas a cambios en la osmolaridad plasmática cediendo o tomando agua del líquido intersticial para mantener su homeostasis.

Si las células como los eritrocitos se colocan en una solución hipotónica, el agua se mueve hacia el interior de la célula haciendo que se hinche y se hemolice, por el contrario, se coloca en una solución hipertónica, la célula pierde agua y se crenará.



Cambios sufridos en una célula animal en diversas soluciones

Material, reactivos y equipo

Material

- Siete tubos de ensayo 13x100 mm
- Una gradilla
- Una perilla de succión
- Una jeringa
- Una ligadura
- Una Pipeta Pasteur
- Cuatro Portaobjetos
- Cuatro cubreobjetos
- Cuatro capilares
- Torundas
- Siete cuadros de parafilm de 2X2cm

Reactivos:

- Agua destilada
- Solución salina de NaCl al 1.2 %
- Solución salina de NaCl al 0.9 %
- Solución salina de NaCl al 0.33%
- EDTA 1 %
- Torundas con alcohol
- Agua destilada
- Alcohol



Equipo.

- Microscopio
- Centrífuga

Servicios. Electricidad y agua.

Técnica

1. Extraer por punción venosa 2-3 mL de sangre
2. Depositarla en un tubo de ensaye limpio y seco que contenga 0.1 mL de EDTA al 1% (0.01M) por cada mililitro de muestra, **para trasvasar de la jeringa al tubo quitar la aguja y resbalar la sangre por las paredes del mismo.**
3. Centrifugar a 4000 r.p.m. durante 5 minutos.
4. Con la ayuda de una pipeta Pasteur, separar el plasma a otro tubo limpio y seco.
5. Rotular cuatro tubos de ensaye del 1 al 4 con cinta Masking tape® con las siguientes leyendas:
 - a. **Tubo 1:** Agua destilada
 - b. **Tubo 2:** Solución salina de NaCl al 0.33%
 - c. **Tubo 3:** Solución salina de NaCl al 0.9%
 - d. **Tubo 4:** Solución salina de NaCl al 1.2%
6. Una vez rotulados, preparar las mezclas correspondientes para cada tubo según la siguiente tabla:

Tubos	1	2	3	4
Agua destilada	5 mL	-	-	-
NaCl 0.33 %	-	5 mL	-	-
NaCl 0.9 %	-	-	5 mL	-
NaCl 1.2 %	-	-	-	5 mL
Eritrocitos	4 gotas	4 gotas	4 gotas	4 gotas

7. Tapar cada tubo con tapón de goma o papel Parafilm®, teniendo las precauciones correspondientes.
8. Mezclar cada tubo por inversión observar e interpretar.
9. Colocar una gota del tubo 1 en un portaobjetos, colocar el cubreobjetos, observar al microscopio y anotar los resultados.
10. Repetir el paso anterior para cada uno de los demás tubos.



Resultados

Interpretar el comportamiento de la membrana de los eritrocitos en las soluciones isotónica, hipertónica e hipotónica.

Cuestionario

1. *Defina los términos:*
 - a. *Presión osmótica*
 - b. *Osmosis*
 - c. *Solución hipotónica, hipertónica e isotónica*
2. *¿Qué compuestos químicos son los responsables de la presión osmótica en plasma y líquido intracelular?*
3. *¿Qué se entiende por crenación y hemólisis?*
4. *Realice una tabla comparativa sobre los diferentes tipos de transporte a nivel de membrana.*
5. *Investigue cual es el comportamiento de los eritrocitos en una solución isotónica, hipotónica e hipertónica.*

Referencias

Tortora, G. J., y Derrickson, B. (2018). *Principios de Anatomía y fisiología*. Editorial Médica Panamericana.

Trudy, McKee, James, y R. McKee. (2014). *Bioquímica. Las bases moleculares de la vida* (5a. ed.). Mc Graw Hill.



Gasometría arterial

Objetivos:

- Obtener la muestra para gasometría arterial.
- Analizar la gasometría arterial.
- Correlacionar clínicamente el aumento y disminución de los gases arteriales.

Generalidades

La gasometría arterial es la prueba que mide los niveles de oxígeno, dióxido de carbono, bicarbonato y pH en sangre. Esta prueba se utiliza para analizar el buen funcionamiento pulmonar en el traslado de oxígeno a la sangre y eliminar el dióxido de carbono de esta (hematosis). La hematosis es el fenómeno de intercambio de gases a nivel pulmonar entre el aire del alveolo y el plasma sanguíneo. Donde se consideran los siguientes parámetros.

Presión parcial de oxígeno (PaO₂). Esto mide la presión del oxígeno disuelto en la sangre y qué tan bien el oxígeno puede desplazarse desde los pulmones hacia la sangre.

Presión parcial de dióxido de carbono (PaCO₂). Esto mide la presión del dióxido de carbono disuelto en la sangre y lo bien que el dióxido de carbono puede eliminarse del cuerpo.

pH. El pH mide los iones de hidrógeno (H⁺) en la sangre. Por lo general, el pH de la sangre es de entre 7.35 y 7.45. El pH inferior a 7.0 se llama ácido y el pH superior a 7.0, básico (alcalino). Por tanto, la sangre es ligeramente básica.

Bicarbonato (HCO₃). El bicarbonato es una sustancia química que en la sangre, sirve para amortiguar el pH.

Los contaminantes de la atmósfera cambian las presiones parciales. Ejemplo: El vapor, gases de fábricas y automóviles alteran estos resultados. Así mismo la presión atmosférica varía de acuerdo a la altura sobre el nivel del mar, de 380 a 760mm Hg.

Valores del contenido de oxígeno (O₂CT) y la saturación de oxígeno (O₂Sat). El contenido de oxígeno mide la cantidad de oxígeno en la sangre. La saturación de oxígeno mide la cantidad de hemoglobina en los glóbulos rojos que transporta oxígeno.

El pH de la sangre es proporcional al cociente entre el bicarbonato en plasma y la presión parcial del dióxido de carbono (PaCO₂). El dióxido de carbono y el bicarbonato son los componentes del tampón bicarbonato. La PaCO₂ es el componente respiratorio del equilibrio ácido-básico y el bicarbonato el componente metabólico.

Para mantener el equilibrio ácido-básico son necesarios los pulmones, los eritrocitos y los riñones. Los pulmones controlan el intercambio de dióxido de carbono y de oxígeno entre la sangre y la atmósfera: Los eritrocitos transportan gases entre los pulmones y los tejidos, y los riñones controlan la síntesis de bicarbonato en el plasma y la excreción del ion hidrógeno.



Significado Clínico.

La gasometría arterial nos permite determinar el grado de oxigenación del paciente (a través de la presión parcial del oxígeno en sangre arterial [PaO_2] y de la saturación del oxígeno en sangre arterial [SaO_2]), el equilibrio ácido-base, la función pulmonar (a través de la presión parcial del dióxido de carbono en sangre arterial [$PaCO_2$]) y el estado metabólico.

Un aumento primario en la $PaCO_2$ o una disminución en la concentración plasmática de bicarbonato originan acidosis. Una disminución en la $PaCO_2$ o un aumento en el bicarbonato en plasma provocan alcalosis. Si el cambio primario es en la $PaCO_2$, el trastorno recibe la denominación de respiratorio, y si el cambio primario es en el bicarbonato en plasma, recibe la denominación de metabólico.

Indicaciones para toma de gasometría

Evaluar patologías respiratorias y calcular la V/Q (Ventilación perfusión) en donde el paciente puede presentar hipoxemia y/o necesitar oxigenoterapia (inclusive intubación).

Evaluar patologías metabólicas (deshidratación, hemorragia, acidosis metabólica, choque) y poder manejar al paciente con soluciones con bicarbonato intravenoso.

Si el paciente se encuentra en terapia intensiva, se puede realizar taller de gases (analizar en conjunto gasometría arterial y venosa). Y de acuerdo a resultado manejar adecuadamente aminas (dopamina y dobutamina).

Tener precaución al evaluar la gasometría ya que al querer tomar una muestra arterial frecuentemente la muestra resulta ser venosa (saber diferenciar resultados).

Materiales, reactivos y equipo

Materiales

- Una jeringa heparinizada de 1 o 3 mL
- Algodón
- Una gasa
- Una Bolsa de hielo
- Dispensador o jeringa para el gasometro

Reactivos

- Sangre arterial
- Alcohol al 70%
- Lidocaína
- Heparina
- Chip del gasometro



Equipo

- Gasómetro

Servicios. Electricidad y agua.

Técnica.

Instrucciones previas para la toma de la muestra

1. Evitar realizar ejercicio intenso antes del procedimiento.
2. Evitar fumar al menos 2 horas antes de la prueba.
3. No se requiere de ayuno para la toma de la muestra.
4. No debe suspender medicación de base.

Ejecución de la prueba

1. Se puede obtener la muestra sanguínea de la arteria femoral, humeral o pedia; no obstante, el sitio más común es la arteria radial. Exceptuando condiciones que dificulten la toma de la muestra, se recomienda la arteria radial de la extremidad no dominante.
2. Colocar la extremidad en dorso flexión (ángulo de 45 grados) sobre un respaldo plano.
3. Realizar la Maniobra de Allen modificada con el objetivo de conocer si las arterias radial y cubital son permeables.

Ejecución de la maniobra de Allen modificada: Solicitar al paciente que realice varias maniobras de apertura y cierre de la mano que será sometida a la toma de muestra. El personal que realice el procedimiento deberá realizar presión en las arterias radial y cubital con el objetivo de obstruir el flujo sanguíneo. Indicar al paciente que mantenga abierta la palma de la mano e inmediatamente liberar la presión de la arteria cubital. Observar el retorno de la coloración habitual que no debe exceder a 10 segundos y ser considerada como prueba positiva para la presencia de adecuada circulación colateral (figura 1).

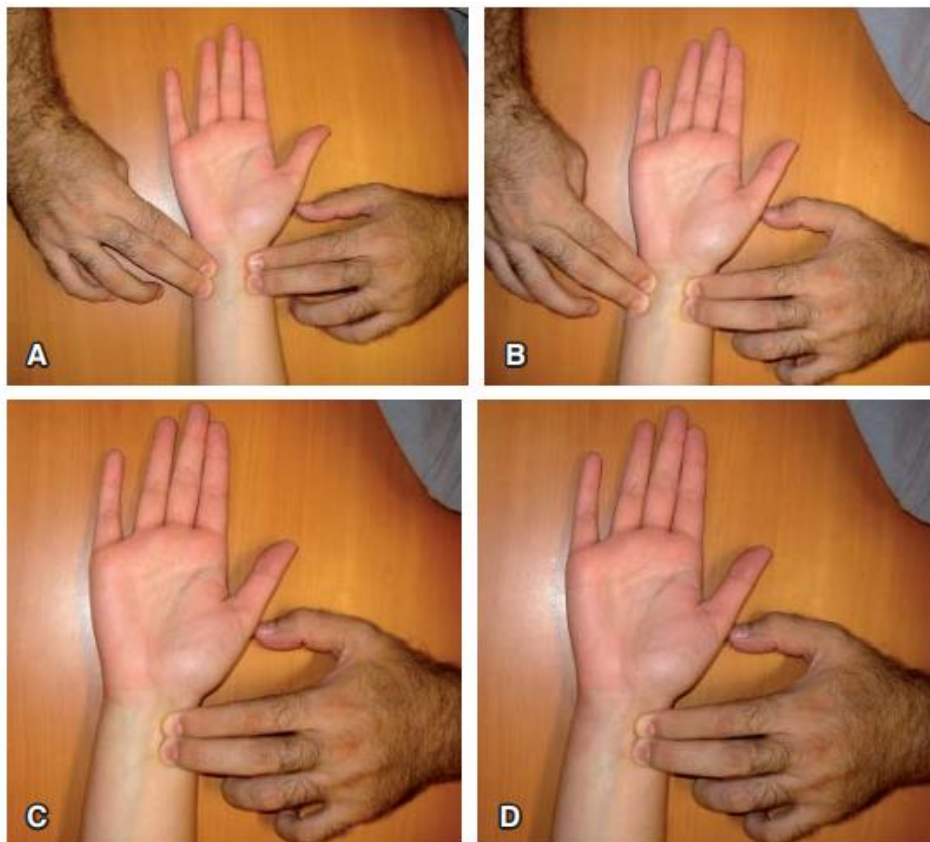


Figura 1. Maniobra de Allen. A: inicia la compresión de las arterias radial y cubital. B: cambio en coloración (palidez) derivado de la oclusión. C: retiro de la compresión en arteria cubital manteniendo oclusión de arteria radial. D: retorno de la coloración normal en el sitio de irrigación de la arteria cubital, prueba positiva para circulación colateral.

Al confirmar la presencia de una adecuada circulación colateral, se lleva a cabo la desinfección del área (2 centímetros cuadrados) donde se realizará la punción arterial empleando alcohol al 70% durante 2 minutos.

4. Cerciorarse que las jeringas preheparinizadas se encuentren debidamente empaquetadas. En caso de jeringas no preheparinizadas, deberá lubricar el contenedor de la jeringa empleando heparina 0.1 mL (dilución 1:1,000 UI/mL).

5. Localizar el sitio de punción palpando el pulso de la arteria, limpiar con alcohol la zona y con una gasa húmeda de lidocaína limpio el sitio de punción.

6. Mientras continúa palpando el pulso, deberá utilizar la mano con mayor habilidad para llevar a cabo la punción de la arteria colocando la aguja adaptada a la jeringa con un ángulo de 45 grados en sentido rostral (contrario al flujo sanguíneo) (Figura 2).



Figura2. Toma de muestra por punción arterial

7. Al finalizar el procedimiento retirar la jeringa y comprimir con una gasa limpia y seca a una distancia de 1 o 2 centímetros del sitio de punción, en sentido proximal o rostral para vigilar complicaciones inmediatas. Se sugiere no comprimir directamente en el orificio del sitio de punción.

8. Se sugiere comprimir durante un tiempo de 3 minutos para minimizar las complicaciones.

9. La muestra obtenida debe ser mezclada continuamente utilizando las palmas de las manos en sentido rotatorio.

COMPLICACIONES

Isquemia distal por arterioespasmo, hematoma, trombosis y metabolismo. Infecciones: a) osteomielitis, b) artritis después de punción femoral. Daño de nervio (nervios mediales, tibial posterior y femoral) Toma inadecuada de la muestra por mayor cantidad de heparina, que altera la cantidad de PaO₂ o de PaCO₂.

Procesamiento de la muestra

1. Al extraer la muestra de sangre arterial deberá agitarse para lograr una mezcla homogénea con la heparina y evitar la formación de coágulos que pueden modificar los resultados.

2. El tiempo máximo de retraso para analizar la muestra obtenida en jeringas de plástico es de 30 minutos con temperaturas ambientales de 22 °C. En caso de que ocurran demoras mayores, la sugerencia es almacenar en envases de cristal o utilizar congelantes para su traslado.

3. En el analizador de gases arteriales seleccionar la cantidad de muestra a procesar (se requiere entre 95 y 200 µL para realizar un adecuado análisis).

4. Previo a introducir la muestra en el receptáculo para su análisis, deberá cerciorarse que la jeringa se encuentre libre de burbujas.



5. Abrir el receptor de muestra del analizador y colocar la jeringa para que la sangre sea aspirada. Retirar la jeringa en el momento que lo solicite el analizador y cerrar el receptor.

6. Al finalizar el aspirado de la muestra, la jeringa deberá depositarse en el contenedor resistente a punzocortantes correspondiente.

7. Imprimir o anotar el informe verificando que los resultados sean consistentes. En caso contrario, deberá aparecer un informe en la pantalla, habitualmente en color rojo, lo cual es indicativo de un nuevo análisis.

Las cifras normales de los parámetros evaluados en la gasometría varían ligeramente entre los distintos laboratorios, pero “en términos generales” son las siguientes:

	Sangre arterial	Sangre venosa
pH sanguíneo	7.35 - 7.45	7.3 – 7.4
PaO₂	80 a 100 mmHg	65 a 87 mmHg
SaO₂	95% a 100%	80 a 90%
PaCO₂	35 a 45 mmHg	45 a 55 mmHg
HCO₃⁻	18 a 24 mEq/L.	14 a 20 mEq/L.

Resultados

Interpretar los resultados obtenidos.

Discutir la correlación clínica del aumento y disminución de los gases arteriales relacionándola con las patologías más frecuentes.

Cuestionario

1. ¿Cuál es la diferencia entre sangre venosa y arterial?
2. ¿Cuál es la relación entre el pCO₂ y el bicarbonato en el organismo?
3. ¿Cuál es la fisiopatología de la alcalosis respiratoria?
4. ¿Cuál es la fisiopatología de la alcalosis metabólica?
5. ¿Cuál es la fisiopatología de la acidosis respiratoria?
6. ¿Cuál es la fisiopatología de la acidosis metabólica?
7. Mencione en qué patologías respiratorias y metabólicas es de utilidad la toma de gasometría.



Referencias

- Baynes, J. W., y Dominiczak, M. H. (2019). *Bioquímica médica*. (5a. Ed.) Elsevier.
- Cortés-Telles, A., Gochicoa-Rangel, L. G., Pérez-Padilla, R., y Torre-Bouscoulet, L. (2017). Gasometría arterial ambulatoria. Recomendaciones y procedimiento. *Neumología y cirugía de tórax*, 76(1), 44-50.
- Farías, M G. *Gasometría. Equilibrio ácido-base en la clínica*. (2a Ed.) México. Manual Moderno.
- Hall, J. E. (2021). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*. (14a Ed.). Elsevier Health Sciences.
- Harrison, T. R., Kasper, D. L., Hauser, S., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Longo, D. L., y Loscalzo, J. (2018). *Harrison: principios de medicina interna*. (20a. Ed.). México: McGraw-Hill
- Hernández, Á. G. (2019). *Principios de bioquímica clínica y patología molecular*. (3er Ed.). Elsevier Health Sciences.
- Jasso, L. (2008). *Neonatología Práctica*. (7ma. Ed.). Manual Moderno.



Cromatografía de aminoácidos

Objetivos

- *Aplicar la técnica de la cromatografía en capa fina como método de identificación de aminoácidos presentes en una muestra de orina.*
- *Interpretar los resultados.*
- *Discutir errores innatos del metabolismo relacionados con aminoácidos.*

Generalidades

La cromatografía es una técnica analítica química, descubierta por el botánico Mikhail Tswett en 1906, que permite la separación de los compuestos presentes en mezclas complejas y así cuantificar, identificar y determinar su naturaleza química (solubilidad, peso molecular, polaridad), es un examen que brinda información de manera rápida y sencilla de cuántos componentes hay en una mezcla.

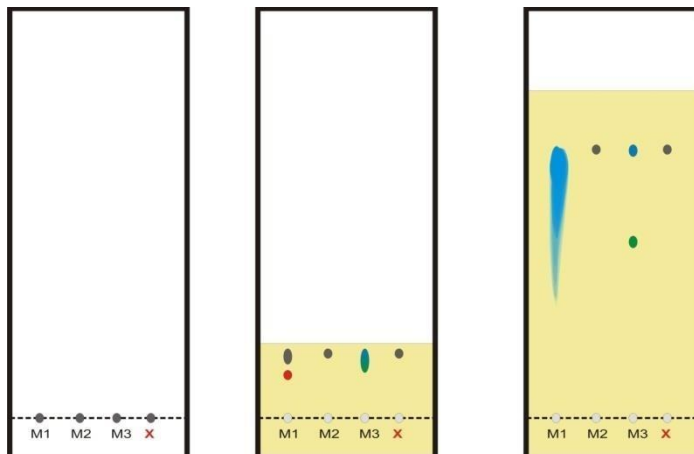
Dependiendo de la tecnología utilizada se pueden diferenciar varios tipos de cromatografía y uno de ellos es la cromatografía de capa fina (CCF).

La cromatografía de capa fina (CCF) es una técnica estándar en el laboratorio que se utiliza a menudo, debido a su simplicidad y velocidad. La separación se lleva a cabo según la distinta interacción que presenta cada uno de los componentes de una muestra respecto a dos fases:

Una estacionaria y otra móvil que fluye sobre ella.

La fase estacionaria: Durante la cromatografía es la sustancia que se mantiene inmóvil, puede ser una placa de vidrio, una lámina de aluminio o de plástico donde se depositan los adsorbentes, gel de sílice, alúmina, ambas de carácter polar.

La fase móvil: Durante la cromatografía es la sustancia que se mueve, puede ser un líquido (Butanol: Ácido acético) o un gas. La muestra que contiene el analito se administra en la fase móvil y asciende por capilaridad por la fase estacionaria según la solubilidad que tengan los componentes separándolos de la muestra.



A modo de ejemplo, se trabajará con aminoácidos. Una vez que los aminoácidos se han separado cromatográficamente se revelarán y se identificarán mediante la reacción con la ninhidrina (un reactivo que reacciona selectivamente con los aminoácidos) dando lugar a una coloración violeta azulado por la presencia de grupos amino libres en posición α .

Significado Clínico

Desde hace años, en diferentes laboratorios, esta metodología ha sido aplicada para el diagnóstico de defectos hereditarios del catabolismo, de la biosíntesis o del transporte de aminoácidos, las Enfermedades Metabólicas (EM) o Errores Innatos del Metabolismo (EIM), éstas enfermedades causadas por una mutación genética se caracterizan por una enzima con actividad deficiente o metabolitos secundarios o sustratos que no logran metabolizarse originando una alteración en el funcionamiento de las células con daño a diferentes órganos, (sistema nervioso, hígado y riñones).

Estas enfermedades pueden detectarse mediante el análisis de aminoácidos en plasma y orina.

La correcta interpretación del resultado involucra un amplio conocimiento de la bioquímica de las enfermedades y de sus rutas metabólicas además de la integración con otros síntomas o pruebas bioquímicas para llegar al diagnóstico correcto.

Actualmente en los laboratorios clínicos la determinación cuantitativa de aminoácidos puede realizarse mediante un analizador de intercambio iónico, mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) con detector fluorimétrico, o mediante cromatografía de gases.



Material, reactivos y equipo

Material

- Vaselina
- Seis Capilares
- Una placa cromatográfica de sílica gel en soporte de aluminio
- Una Cámara de elusión con tapa

Reactivos

- Mezcla Butanol: Ácido acético: Agua (8:2:2)
- Patrones de aminoácidos (prolina, metionina, valina, triptófano, alanina)
- Muestra problema
- Solución de ninhidrina 0.3%

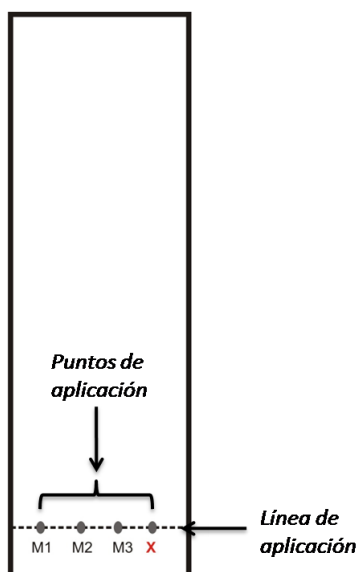
Equipo

- Parrilla de calentamiento

Servicios. Electricidad y agua.

Técnica

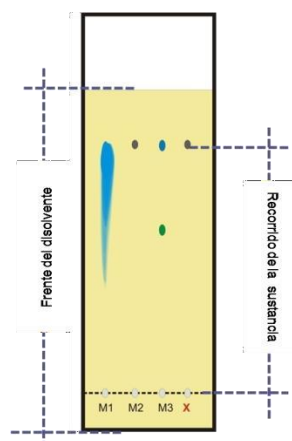
- Calentar la placa cromatográfica de sílica gel en la estufa a 110 grados centígrados por 15 minutos.
- Con la ayuda de una regla y lápiz, dibujar una línea a unos 2 cm de la base sobre la cual se distribuirán 5 marcas, tratando de que quede lo mejor distribuidas pues se colocarán las muestras de aminoácido patrón y una muestra problema.
- Utilizando un capilar adicionar cada uno de los aminoácidos conocidos, esto se hará en los puntos uno a cuatro empleando un capilar por cada aminoácido, como se muestra.





- En el quinto punto adicionar la muestra problema que corresponde a la orina.
- Dejar secar al aire.
- Colocar la placa de forma vertical en la cámara cromatográfica y taparla, para ello deslizar la tapa sobre la cámara.
- Dejar que el disolvente fluya libremente hasta un centímetro antes del borde superior.
- Sacar la placa y con un lápiz marcar la línea donde llegó el disolvente, la distancia e esta línea hasta el borde inferior se le llama **Frente del disolvente**.
- Secar la placa al aire y rociarla de ninhidrina con un aspersor.
- Colocar la placa en una parrilla de calentamiento hasta que aparezcan las manchas correspondientes.
- Con un lápiz delinear, suavemente, las manchas formadas entre el aminoácido y la ninhidrina.
- Se obtienen colores azules o púrpuras para todos los aminoácidos exceptuando la prolina e hidroxiprolina que producen un color amarillo
- Determinar el factor de retención (R_f) para cada uno de los aminoácidos, es decir, la distancia recorrida por un aminoácido o muestra dividida por la distancia total recorrida por el disolvente. Con ayuda de una regla y lápiz, medir la distancia del punto de aplicación al centro de cada mancha correspondiente a los aminoácidos. Con estas dos mediciones, obtener el valor de R_f como se muestra:

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por la muestra}}{\text{Distancia recorrida por el disolvente}}$$



- Calcular el R_f para cada mancha e identificar el aminoácido que existe en la muestra problema.



Resultados

Interpretar los resultados obtenidos.

Discutir errores innatos del metabolismo relacionados con aminoácidos.

Cuestionario

1. *Enuncie los errores innatos del metabolismo relacionados con aminoácidos más frecuentes.*
2. *Explique la fisiopatología de los errores innatos del metabolismo relacionados con aminoácidos.*
3. *Explique las rutas metabólicas de los errores innatos del metabolismo relacionados con aminoácidos.*
4. *Correlacionar la función de la cromatografía de capa fina (relación fase móvil- fase estacionaria) con las propiedades físicas y químicas de los aminoácidos y la muestra analizada.*

Referencias

- Barret, K. E. (2020). *Ganong Fisiología Médica* (26a.Ed.). McGraw-Hill LANGE.
- Harrison, T. R. (2018). *Harrison: Principios de Medicina Interna* (20a.Ed.). McGraw-Hill.
- Polo, D. L. (2015). *Fundamentos de Cromatografía*. Editorial Dextra



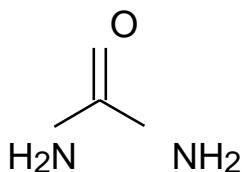
Determinación de urea sérica

Objetivos:

- Determinar cuantitativamente la concentración de urea sérica.
- Interpretar los resultados obtenidos de acuerdo a los valores de referencia, relacionando con las patologías más frecuentes.

Generalidades

La urea se forma en el hígado y, junto con el CO₂, constituye el producto final del metabolismo de las proteínas. La cantidad de urea excretada varía de manera directamente proporcional con la ingestión de proteínas; la mayor excreción se altera con la fiebre, la diabetes y el aumento en la actividad suprarrenal.



Estructura de la Urea

La urea es el principal compuesto de desecho nitrogenado por la orina. El 90% se elimina por filtración glomerular y luego se reabsorbe el 40-70% en el túbulo proximal acompañando al agua. Su eliminación depende del flujo urinario, de modo que, en caso de diuresis elevada, se elimina en mayor proporción, mientras que cuando se reabsorben grandes cantidades de agua por baja perfusión como en la deshidratación, hemorragias o insuficiencia cardíaca, hay retención de urea. En estos casos hay la concentración plasmática de urea aumenta mucho más que la creatinina. Por lo que sola no es un buen parámetro para valorar función glomerular y debe combinarse con la determinación plasmática de creatinina. La relación plasmática urea/creatinina oscila entre 41-80 mmol de urea de creatinina, cuando el cociente es elevado se sugiere una enfermedad pre renal u obstrucción pos renal, mientras que si la relación es baja orienta hacia una acidosis tubular renal.

Se ha empleado el término BUN o nitrógeno ureico sanguíneo para referirse a la urea. Teniendo en cuenta la fórmula de la urea, CO(NH₂)₂ y su peso molecular (60 Da), se puede realizar fácilmente la conversión:

$$BUN = [Urea] \times 28/60$$

Es el principal metabolito de las proteínas. Los valores oscilan entre 15 y 45 mg/dL. Se suele expresar como BUN o nitrógeno ureico sanguíneo (**Urea = BUN x 2,146**).



La prueba de BUN, en la que se cuantifica la porción nitrogenada de la urea, se utiliza como índice burdo de la función glomerular y de la producción y excreción de urea. El catabolismo proteínico rápido y el deterioro de la función renal provocan un aumento del BUN. La velocidad con que éste aumenta depende del grado de necrosis tisular, del catabolismo proteico y de la rapidez con que los riñones excretan el nitrógeno de urea. El BUN es menos sensible que la depuración de creatinina y muchas veces sigue normal hasta que la creatinina es moderadamente anormal.

Significado Clínico.

El BUN se eleva (hiperazoemia) en casos de:

- Deterioro de la función renal
- Insuficiencia cardíaca congestiva
- Depleción de sal y agua
- Shock
- Hemorragia gastrointestinal
- Infarto agudo de miocardio
- Tensión
- Ingestión excesiva de proteínas o catabolismo proteico
- Deshidratación

El BUN disminuye en:

- Insuficiencia hepática (hepatopatía grave) como en hepatitis, intoxicaciones, uso de medicamentos hepatotóxicos.
- Acromegalia
- Desnutrición
- Uso de esteroides anabólicos
- Alimentación intravenosa
- Absorción insuficiente (enfermedad celíaca).
- Síndrome nefrótico (ocasional)
- Síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética (SIADH)

Materiales, reactivos y equipo

Materiales

- Una Jeringa de 5 mL o tubo Vacutainer rojo o verde
- Una Ligadura
- Algodón
- Tres celdas de 1cm paso de luz
- Seis tubos de ensaye
- En caso de usar tubo Vacutainer aguja y camisa de extracción
- Una Gradilla

Reactivos

- Suero o plasma
- Estuche de Urea 37 (Spinreact)
- Alcohol al 70%
- EDTA al 1%



Equipo

- Espectrofotómetro
- Centrifuga
- Balanza de dos platos
- Pipeta automática 1000 μL
- Pipeta automática 200 μL

Servicios. Electricidad y agua.

Técnica

- Ver anexo de la práctica.

Resultados

Interpretar el resultado obtenido

Discutir la correlación clínica del aumento y disminución de urea relacionándola con las patologías más frecuentes.

Cuestionario

1. Investiga la fisiopatología de la urea en las siguientes enfermedades:
 - a. Insuficiencia renal crónica
 - b. Insuficiencia cardíaca congestiva
2. Investiga la fisiopatología de la urea en las siguientes enfermedades:
 - a. Insuficiencia hepática
 - b. desnutrición
3. Describe el metabolismo de la urea en el organismo.

Referencias

Baynes, J. W., y Dominiczak, M. H. (2019). *Bioquímica médica*. (5a. Ed.). Elsevier.

Hall, J. E. (2021). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*. (14a Ed.). Elsevier Health Sciences.

Harrison, T. R., Kasper, D. L., Hauser, S., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Longo, D. L., y Loscalzo, J. (2018). *Harrison: principios de medicina interna* (20a. Ed.). McGraw-Hill.

Hernández, Á. G. (2019). *Principios de bioquímica clínica y patología molecular*. (3er Ed.). Elsevier Health Sciences.

Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de la Enfermedad Renal Crónica. Guía de Evidencias y Recomendaciones: Guía de Práctica Clínica. México, CENETEC; (2019). Disponible en: <https://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/335GER.pdf>.



Anexo



UREA -37

Urea 37

o-Ftalaldehído 37°C. Colorimétrico

Determinación cuantitativa de urea

IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La urea presente en la muestra reacciona con el o-ftalaldehído en medio ácido originando un complejo coloreado que puede cuantificarse espectrofotométricamente:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de urea en la muestra ensayada¹.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La urea es el resultado final del metabolismo de las proteínas; se forma en el hígado a partir de su destrucción.

Puede aparecer la urea elevada en sangre (uremia) en dietas con exceso de proteínas, enfermedades renales, insuficiencia cardíaca, hemorragias gástricas, hipovolemia y obstrucciones renales^{1,4,5}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1	o-Ftalaldehído	4,8 mmol/L
R 2	Solución borato	87 mmol/L
	Ácido sulfúrico	3 mol/L
UREA CAL	Patrón primario acuoso de Urea 50 mg/dL	

PRECAUCIONES

R2: H314-Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.
Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

Todos los reactivos están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 510 nm \geq 0,20.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 510 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio^(Nota 2).

MUESTRAS

- Suero o plasma heparinizado¹: No usar sales de amonio o fluoruro como anticoagulantes.
- Orina¹: Diluir la muestra al 1/50 en agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 50 (factor de dilución). Evitar el crecimiento bacteriano, manteniendo el pH < 4.

La urea es estable 5 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO Y CÁLCULOS

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 510 nm (500-550)
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura: 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

A) Cinética

- Pipetear en tubos de ensayo:

	Blanco	Patrón	Muestra
R 1 (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón ^(Nota 1,3,4) (μL)	--	50	--
Muestra (μL)	--	--	50

- Mezclar e incubar 1 minuto y añadir:
R 2 (mL) 1,0 1,0 1,0
- Mezclar, incubar a 37°C y leer las absorbancias a 1 minuto (A₁) y a los 2 minutos (A₂).
- Calcular el incremento de la absorbancia ΔA= A₂ - A₁.

Cálculos

$$\frac{(A_2 - A_1) \text{Muestra} - (A_2 - A_1) \text{Blanco}}{(A_2 - A_1) \text{Patrón} - (A_2 - A_1) \text{Blanco}} \times 50 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de urea en la muestra}$$

B) Punto final

- Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
R 1 (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón ^(Nota 1,3,4) (μL)	--	25	--
Muestra (μL)	--	--	25

- Mezclar y añadir:
R 2 (mL) 1,0 1,0 1,0

- Mezclar e incubar 15 minutos a 37°C.
- Leer la (A) del calibrador y la muestra, frente al Blanco de reactivo.

Cálculos

$$\frac{(A) \text{Muestra} - (A) \text{Blanco}}{(A) \text{Patrón} - (A) \text{Blanco}} \times 50 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de urea en la muestra}$$

10 mg/L urea BUN dividido por 0,466 = 21 mg/L de urea = 0,36 mmol/L urea¹.

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

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control y valorados: SPINROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

- Suero: de 15 a 45 mg/dL (2,49-7,49 mmol/L)
- Orina: de 20 a 35 gr/24 horas

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,70 mg/dL hasta el límite de linealidad de 200 mg/dL.

Si la concentración es superior al límite de linealidad, diluir la muestra 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n=20)	Interserie (n=20)
Media (mg/dL)	43,2 145	41,9 147
SD	1,51 1,10	0,80 2,83
CV (%)	3,49 0,76	1,92 1,91

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,00459 A.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x). Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,9884

Ecuación de la recta de regresión: y=0,975x + 0,6

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Como anticoagulante se recomienda la heparina. En ningún caso deben utilizarse sales de amonio o fluoruro¹.

Se han descrito varias drogas y otras substancias que interfieren en la determinación de la urea^{2,3}.

NOTAS

- UREA CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- El material empleado así como el agua destilada que se utilice deben estar libres de amoníaco y/o sus sales¹.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Kaplan A. Urea. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1257-1260 and 437 and 418.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref. 1001323	Cont.	R1: 1 x 50 mL, R2: 1 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL
Ref. 1001325		R1: 1 x 250 mL, R2: 1 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref. 1001326		R1: 1 x 100 mL, R2: 1 x 100 mL, CAL: 1 x 2 mL





Determinación de albúmina sérica

Objetivos

- *Cuantificar la albúmina sérica por el método del verde de bromocresol.*
- *Interpretar los resultados obtenidos, relacionándolos con enfermedades hepáticas, renales y con el mantenimiento de la presión oncótica, así como con el transporte de sustancias insolubles en plasma.*

Generalidades

La concentración de proteína total en el plasma de seres humanos es alrededor de 7.0 a 7.5 g/dL e incluye la mayor parte de sólidos del plasma. Las proteínas del plasma son una mezcla compleja que comprende proteínas no solo simples sino también conjugadas, como glucoproteínas y diversos tipos de lipoproteínas.

Se han separado tres grupos principales:

- *Fibrinógeno*
- *Albúmina*
- *Globulinas*

La albúmina es la principal proteína del plasma humano cuyo valor es de 3.5 a 5 g/dL, y la cantidad total intercambiable del fondo común de albúmina es de 4 a 5 g/kg de peso corporal; 38 a 45% de esta albúmina es intravascular y gran parte del resto se localiza en la piel. Entre 6 y 10% del fondo intercambiable se degrada cada día y es sustituida por la síntesis hepática de 200 a 400 mg/kg/día. La albúmina disminuye durante el ayuno y aumenta en padecimientos, como la nefrosis, en los que hay una pérdida excesiva de albúmina. Debido a su masa molecular relativamente baja (alrededor de 69kDa) y concentración alta, se cree que 75 a 80% de la presión osmótica del plasma de seres humanos depende de la albúmina.

Otra función importante es su capacidad para unirse a diversos ligandos, como los ácidos grasos libres, calcio, ciertas hormonas esteroideas, bilirrubina y parte del triptófano plasmático. Diversos fármacos, como las sulfonamidas, penicilina G, dicumarol y aspirina. Desempeña una función importante en el transporte del cobre en el cuerpo humano.

Significado Clínico.

La concentración plasmática de albúmina también depende del estado de hidratación, la concentración de albúmina es baja en los pacientes sobrehidratados. En numerosas enfermedades agudas y crónicas disminuye la concentración de albúmina sérica.

La enfermedad hepatocelular puede alterar la síntesis de proteínas, tanto cuantitativa como cualitativamente. La albúmina es la proteína más abundante en la sangre y se sintetiza exclusivamente en el hígado. En la enfermedad hepática es frecuente que existan concentraciones bajas de albúmina. Sin embargo, no es un buen índice de la función de síntesis hepática porque en la enfermedad sistémica (que acompaña a menudo a las hepatopatías) está aumentada la permeabilidad endotelial vascular, lo cual permite la salida de albúmina hacia el espacio intersticial.



Materiales, reactivos y equipo

Materiales

- Una jeringa de 5 mL o un tubo Vacutainer rojo o morado
- Una ligadura
- Algodón
- Tres celdas de 1cm paso de luz
- Seis tubos de ensaye
- En caso de usar tubo Vacutainer, una aguja y una camisa de extracción
- Una Gradilla

Reactivos

- Suero o plasma
- Estuche de albúmina (Spinreact)
- Alcohol al 70%
- EDTA al 1%

Equipo

- Espectrofotómetro
- Centrifuga
- Balanza de dos platos
- Pipeta automática 100 μ L
- Pipeta automática 20 μ L

Servicios. Electricidad y agua.

Técnica

- Ver anexo de la práctica.

Resultados

Interpretar el resultado obtenido

Discutir la correlación clínica del aumento y disminución de albúmina relacionándola con las patologías más frecuentes.

Cuestionario

- 1.- Mencione cuales son las proteínas plasmáticas
- 2.- Describa las funciones de las proteínas plasmáticas
- 3.- Describa la aplicación médica de las proteínas plasmáticas
- 4.- Mencione 3 patologías en donde la albúmina se encuentra elevada
- 5.- Mencione 3 patologías en donde la albúmina se encuentra disminuida



Referencias

Baynes, J. W., y Dominiczak, M. H. (2019). *Bioquímica médica*. (5a. Ed.) Elsevier.

Hall, J. E. (2021). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*. (14a. Ed.). Elsevier Health Sciences.

Harrison, T. R., Kasper, D. L., Hauser, S., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Longo, D. L., y Loscalzo, J. (2018). *Harrison: principios de medicina interna* (20a. Ed.). McGraw-Hill.

Hernández, Á. G. (2019). *Principios de bioquímica clínica y patología molecular*. (3er Ed.). Elsevier Health Sciences.

Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de la Enfermedad Renal Crónica. Guía de Evidencias y Recomendaciones: Guía de Práctica Clínica. México, CENETEC; (2019). Disponible en: <https://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/335GER.pdf>.



Anexo



CE

ALBUMIN

Albúmina

Verde bromocresol. Colorimétrico

**Determinación cuantitativa de albúmina
IVD**

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO 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 presente en la muestra ensayada^{1,2,3,4}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La albúmina es una de las más importantes proteínas plasmáticas producidas en el hígado.

Entre sus múltiples funciones se incluye nutrición, mantenimiento de la presión oncótica y transporte de sustancias como Ca⁺⁺, bilirrubina, ácidos grasos, drogas y esteroides.

Alteraciones en los valores de albúmina indican enfermedades del hígado, desnutrición, lesiones de la piel como dermatitis, quemaduras severas o deshidratación^{1,7,8}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R	Verde bromocresol pH 4,2	0,12 mmol/L
ALBUMIN CAL	Patrón primario acuoso de Albúmina	5 g/dL

PREPARACIÓN

El reactivo y patrón están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del blanco a 630 nm \geq 0,40.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 630 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma libre de hemólisis¹; Estabilidad 1 mes a 2-8°C o 1 semana a 15-25°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 630 nm (600-650)
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura: 15-25°C/37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta^(Nota 3):

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón ^(Nota 1,2) (µL)	--	5	--
Muestra (µL)	--	--	5

- Mezclar e incubar 5 min a 37°C ó 10 min a 15-25°C.
- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al blanco de reactivo. El color es estable 1 hora a temperatura ambiente.

CÁLCULOS

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 5 (\text{Conc Patrón}) = \text{g/dL de albúmina en la muestra}$$

$$\text{Factor de conversión: g/dL} \times 144,9 = \mu\text{mol/L}$$

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

3,5 a 5,0 g/dL¹.

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,0349 g/dL hasta el límite de linealidad de 6 g/dL.

Si la concentración es superior al límite de linealidad, diluir la muestra 1/2 con CIa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Media (g/dL)	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
	5,00	3,71	4,56	3,07
SD	0,02	0,02	0,28	0,18
CV (%)	0,47	0,55	6,20	5,90

Sensibilidad analítica: 1 g/dL = 0,2003 (A).

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r)²: 0,99169.

Ecuación de la recta de regresión: y=1,045x - 0,028.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina hasta 110 mg/L, hemoglobina hasta 1 g/L y lipemia hasta 10 g/L, interfieren^{1,4}.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la albúmina^{5,6}.

NOTAS

- ALBUMIN CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Gendler S. Uric acid. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1268-1273 and 425.
- Rodkey F L. Clin Chem 1965; 11: 478-487.
- Webster D. Clin Chem. 1974; Acta 53: 109-115.
- Doumas BT Clin Chem. 1971; Acta 31: 87-96.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 1001020	Cont	R: 2 x 250 mL ,	CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001022		R: 1 x 1000 mL ,	CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001023		R: 2 x 50 mL ,	CAL: 1 x 2 mL



Determinación de amilasa sérica

Objetivos:

- *Determinar cuantitativamente la concentración de la enzima α -amilasa sérica.*
- *Correlacionar clínicamente el aumento y disminución de la concentración de amilasa en suero.*

Generalidades

La amilasa es una enzima que hidroliza aleatoriamente los enlaces glucídicos alfa 1-4 de los hidratos de carbono como el almidón y glucógeno, produciendo disacáridos y algunos trisacárido. Existen dos isoenzimas codificadas por dos genes en el cromosoma 1 la isoenzima S que se expresa fundamentalmente en las glándulas salivales y la isoenzima P que se expresa en los acinos del páncreas, siendo estos los principales sitios de excreción de la enzima, en el suero se encuentran ambas isoenzimas, también existe actividad de la amilasa en otros tejidos como Intestino, testículos, ovarios, trompas de Falopio, pulmón, músculo y tejido adiposo. La principal función de la amilasa en el organismo es la digestión de los hidratos de carbono provenientes de la dieta. Cuando el páncreas o las glándulas salivales se inflaman, entra una gran cantidad de amilasa en la sangre aumentando sus parámetros normales. Los niveles de amilasa en orina reflejan los cambios en la sangre con un retraso de 6 a 10 horas.

Significado Clínico

Una de las enfermedades más frecuentes del aumento de la amilasa en suero puede estar relacionado con una pancreatitis aguda, enfermedad potencialmente mortal causada por cálculos que bloquean el conducto pancreático debido a un consumo excesivo de alcohol y, más raramente, a algunos fármacos como azatioprina, a algunos virus como el de la parotiditis o a hipertrigliceridemia. Los pacientes presentan dolor abdominal agudo, náuseas y vómitos. El marcador bioquímico más importante de la pancreatitis es la elevación mayor de tres veces el valor superior normal de la enzima amilasa en el suero, la cual se eleva en las 6 a 12 horas posteriores al inicio del dolor, tiene una vida media de 10 horas, y persiste elevada por 3 a 5 días, también puede haber un aumento de la actividad de la lipasa y un descenso del calcio sérico.

La amilasa también se eleva en:

- Exacerbación aguda de pancreatitis crónica*
- Gastrectomía parcial*
- Obstrucción del conducto pancreático*
- Úlcera péptica perforada*
- Intoxicación con alcohol*
- Parotiditis*
- Obstrucción o inflamación de los conductos de la glándula salival*
- Colecistitis aguda cálculo en conducto común*
- Obstrucción intestinal con estrangulación*
- Aneurisma aórtico roto*



La amilasa disminuye en:

- . *Insuficiencia pancreática*
- a. *Hepatitis, hepatopatía grave*
- b. *Fibrosis quística avanzada*
- c. *Toxemia del embarazo*
- d. *Quemaduras extensas*
- e. *Tirotoxicosis grave*

Materiales, reactivos y equipo

Materiales

- *Una jeringa de 5 mL o un tubo Vacutainer rojo o verde*
- *Una ligadura*
- *Algodón*
- *Tres celdas de 1cm paso de luz*
- *Seis tubos de ensaye*
- *En caso de usar tubo Vacutainer una aguja y una camisa de extracción*
- *Una Gradilla*

Equipo

- *Espectrofotómetro*
- *Centrifuga*
- *Balanza de dos platos*
- *Pipeta automática 1000 μ L*
- *Pipeta automática 200 μ L*

Reactivos

- *Suero separado lo antes posible de los hematíes o plasma*
- *Estuche de Amilasa-LQ (Spinreact)*
- *Alcohol al 70%*
- *Heparina*

Servicios. *Electricidad y agua.*

Técnica

- *Ver anexo de la práctica.*

Resultados

Interpretar los resultados obtenidos.

Discutir la correlación clínica del aumento y disminución de la amilasa relacionándola con las patologías más frecuentes.



Cuestionario

1. *Explica la fisiopatología de la amilasa en las siguientes enfermedades:*
 1. *Pancreatitis*
 2. *Parotiditis*
1. *Explica cuál es la relación diagnóstica que existe entre amilasa y lipasa.*
2. *Explica en qué casos es aconsejable realizar la determinación de amilasa y lipasa pancreática.*
3. *Menciona con que otras pruebas de laboratorio y gabinete se usan para el diagnóstico de la pancreatitis aguda.*

Referencias

Baynes, J. W., y Dominiczak, M. H. (2019). *Bioquímica médica*. (5a. Ed.) Elsevier.

Hall, J. E. (2021). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*. (14a Ed.). Elsevier Health Sciences.

Harrison, T. R., Kasper, D. L., Hauser, S., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Longo, D. L., y Loscalzo, J. (2018). *Harrison: principios de medicina interna* (20a. Ed.). McGraw-Hill.

Hernández, Á. G. (2019). *Principios de bioquímica clínica y patología molecular*. (3er Ed.). Elsevier Health Sciences.

Diagnóstico y Tratamiento de Pancreatitis Aguda. México. Guía de Práctica Clínica México. Secretaría de Salud, (2009). Disponible en: <http://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/239GER.pdf>



Anexo



AMYLASE-LQ

Amilasa-LQ

CNPG₃. Cinético. Líquido

Determinación cuantitativa de α-amilasa (AMS)
IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La α-amilasa hidroliza el 2-cloro-4-nitrofenil-α-D-maltotriósido (CNPG₃) a 2-cloro-4-nitrofenol (CNP) y forma 2-cloro-4-nitrofenil-α-D-maltoside (CNPG₂), maltotriosa (G₃) y glucosa (G), según la siguiente reacción:



La velocidad de formación de 2-cloro-4-nitrofenol, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de α-amilasa en la muestra ensayada¹.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La α-amilasa (AMS) es una enzima que ayuda a digerir el glucógeno y el almidón. Se produce principalmente en las glándulas salivales y el páncreas exocrino. Su determinación se realiza principalmente para diagnosticar o controlar enfermedades del páncreas como pancreatitis crónica o aguda. Puede reflejar también enfermedad de la vesícula biliar, algunos problemas gastrointestinales y otros trastornos^{2,5,6}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R (Nota 3)	MES pH 6,0	100 mmol/L
	CNPG ₃	2,25 mmol/L
	Cloruro sódico	350 mmol/L
	Acetato cálcico	6 mmol/L
	Tiocianato potásico	900 mmol/L
	Ácida sódica	0,95 gr/L

PREPARACIÓN

Reactivo listo para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Una vez abierto el reactivo es estable 60 días, si se cierra inmediatamente después de su uso y se conserva a 2-8°C.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia del Blanco a 405 nm \geq 0,40.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 405 nm.
- Baño termostatable a 37°C (Nota 1).
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio (Nota 2).

MUESTRAS

- Suero o plasma¹, separado lo antes posible de los hematíes. Como anticoagulante se recomienda la heparina.
 - Orina, ajustar el pH aproximadamente a 7,0 antes de conservar.
- Estabilidad: 1 mes a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 405 nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura constante: 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

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

- Mezclar, incubar 30 segundos.
- Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronómetro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.
- Calcular el promedio de la diferencia de absorbancia por minuto (ΔA/min).

CÁLCULOS

Suero o plasma ΔA/min x 3954 = U/L AMS

Orina ΔA/min x 7908 = U/L AMS

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 μmol de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

Factor de conversión: U/L x 0,01667 = μkat/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA³

Suero o plasma Hasta 90 U/L de α-amilasa
Orina Hasta 450 U/L de α-amilasa

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 0,2439 U/L hasta el límite de linealidad 2200 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Media (U/L)	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
	77	194	77	197
SD	1,12	2,22	1,08	2,96
CV (%)	1,45	1,15	1,39	1,50

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,00025 ΔA/min.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r²): 0,98628.

Ecuación de la recta de regresión: y=0,746x - 1,2697.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

La hemólisis interfiere en los resultados¹. La actividad α-amilasa puede ser inhibida por agentes quelantes como citrato y EDTA. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la α-amilasa^{3,4}.

NOTAS

- La α-amilasa es temperatura-dependiente, los ensayos realizados a temperaturas <37°C o >37°C pueden variar los resultados.
- La saliva y el sudor contienen α-amilasa. Evitar el pipeteo con la boca el contacto de la piel con el reactivo o material empleado.
- Contiene tiocianato potásico. Evitar inhalación o contacto del reactivo con la piel y ojos. En tal caso, lavar la piel y los ojos con abundante agua y consultar a un médico.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFÍA

- Ying Foo A et al. Amylase measurement with 2-chloro-4nitrophenyl maltotriósido as substrate. Clin Chim 272, 1998; 137-147.
- McNeely M. Amylase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis, Toronto, Princeton 1984; 1112-116.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 41201 Cont. R: 20 x 2 mL
Ref: 41202 Cont. R: 2 x 60 mL





Determinación de las enzima aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT) séricas

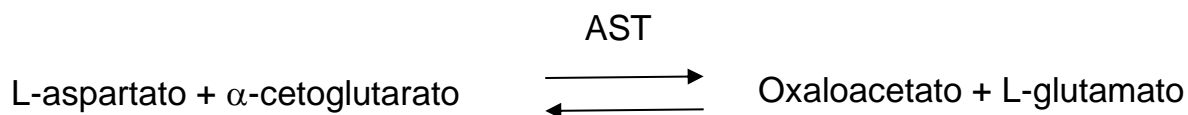
Objetivos.

- *Determinar cuantitativamente la concentración de la enzima aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT) séricas.*
- *Correlacionar clínicamente el aumento y disminución de la concentración de la AST y ALT séricas.*

Generalidades.

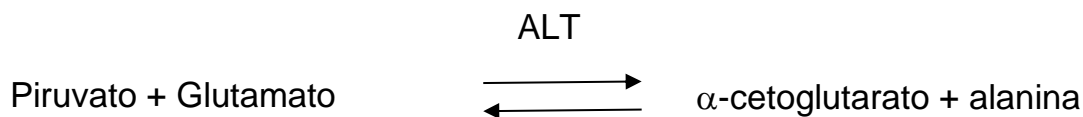
Las enzimas aminotransferasas catalizan la transferencia reversible de un grupo amino desde un α -aminoácido hasta un α -cetoácido, empleando como cofactor al piridoxal-P. Estas enzimas se encuentran dentro de las células y participan en el metabolismo de los aminoácidos y en la gluconeogénesis. Las aminotransferasas de mayor interés clínico son la aspartato aminotransferasa o aspartato transaminasa (AST, TG, anteriormente se le conocía como transaminasa glutámico oxalacética (TGO)) y la alanina aminotransferasa (ALT, antiguamente llamada transaminasa glutámico pirúvica (TGP)).

La AST es una enzima que ayuda a metabolizar los aminoácidos. Catalizando la reacción de transferencia de un grupo amino desde el L-aspartato al α -cetoglutarato, formándose L-glutamato y oxaloacetato.



También puede actuar sobre la L-tirosina, la L-fenilalanina y el L-triptófano. La AST se encuentra en cantidades muy elevadas en el hígado, corazón, músculo esquelético y riñón.

La ALT es una enzima citosólica que transfiere el grupo amino desde el glutamato hasta el piruvato, para formar α -cetoglutarato y alanina. Existen dos isoenzimas codificadas por genes diferentes: una mitocondrial y otra citosólica, que constituye más del 90% de la actividad sérica en personas sanas.



La ALT predomina en el hígado, donde su actividad es casi 3000 veces superior a la del suero. Esta enzima es específica del hígado, aunque también es abundante en el corazón, músculo esquelético, páncreas, bazo, pulmón y eritrocitos.

Sus actividades aumentan en el suero por la liberación desde células lesionadas o necrosadas, y habitualmente se determinan las actividades de AST y ALT, simultáneamente. La vida media de la AST citosólica en suero es de 17 horas, mientras que la de ALT de unas 45 horas.



Significado Clínico

En el caso de la AST se eleva en suero en casos de infarto agudo de miocardio, el nivel puede ser de 4 a 10 veces mayor que lo normal, alcanzando un pico máximo en 24 horas, y se normaliza entre 3 y 4 días. Además la podemos encontrar elevada en hepatopatía aguda y de miopatías, por el empleo de determinados fármacos y en casos de cualquier enfermedad o trastorno en donde las células resulten dañadas gravemente.

Si hay cambios paralelos en ALT, determinan enfermedad hepática. Se encuentra incrementada en el infarto agudo al miocardio, afección hepática, Sx de Reye, traumatismo e inyección muscular, pancreatitis, lesión o cirugías intestinales, medicamentos (eritromicina, opiáceos), quemaduras, cateterismo cardíaco, daño cerebral, infarto renal.

La AST también se eleva en enfermedades hepáticas (de 10 a 100 veces más que lo normal):

- *Hepatitis aguda y crónica*
- *Cirrosis activa*
- *Mononucleosis infecciosa*
- *Necrosis hepática*
- *Carcinoma primario o metastásico*
- *Hepatitis alcohólica*
- *Síndrome de Reye*

Otras enfermedades que pueden acompañarse de elevación de la AST:

- *Pancreatitis aguda*
- *Traumatismo o radiación del músculo esquelético*
- *Dermatomiositis*
- *Polimiositis*
- *Triquinosis*
- *Cateterismo cardíaco*

La AST disminuye en:

- *Hiperazoemia*

El nivel de ALT se eleva en:

- *Enfermedad hepatocelular (elevación de moderada a alta)*
- *Cirrosis activa (elevación leve)*
- *Tumor hepático metastásico (elevación leve)*
- *Ictericia obstructiva biliar (elevación leve a moderada)*
- *Hepatitis viral, infecciosa o tóxica (30 a 50 veces el valor mayor del valor de referencia)*
- *Mononucleosis infecciosa*
- *Pancreatitis (elevación leve)*
- *Infarto al miocardio*
- *Polimiositis*
- *Quemaduras graves*
- *Traumatismo del músculo estriado*



Materiales, reactivos y equipo

Materiales

- Una jeringa de 5 mL o un tubo Vacutainer rojo o morado
- Una ligadura
- Algodón
- Tres celdas de 1cm paso de luz
- Seis tubos de ensaye
- En caso de usar tubo Vacutainer una aguja y una camisa de extracción
- Una Gradilla

Reactivos

- Suero separado lo antes posible de los hematíes o plasma
- Estuche de AST (Spinreact)
- Estuche de ALT (Spinreact)
- Alcohol al 70%
- EDTA

Equipo

- Espectrofotómetro
- Centrifuga
- Balanza de dos platos
- Pipeta automática 1000 μ L
- Pipeta automática 200 μ L

Servicios. Electricidad y agua.

Técnica

- Ver anexos de la práctica

Resultados

Interpretar los resultados obtenidos.

Discutir la correlación clínica del aumento y disminución de la AST y ALT relacionándolas con las patologías más frecuentes.



Questionario

1. *Describe las características de AST en:*
 1. *Infarto agudo al miocardio*
 2. *Hepatitis aguda*
2. *Investiga la fisiopatología de la ALT en las siguientes enfermedades:*
 1. *Hepatitis viral infecciosa*
 2. *Ictericia biliar obstructiva*
3. *Explica cuál es la razón por la cual los pacientes con elevación de ALT no deben donar sangre.*
4. *Explica cuál es la relación que existe entre ALT/AST en el infarto agudo al miocardio.*

Bibliografía.

Baynes, J. W., y Dominiczak, M. H. (2019). *Bioquímica médica*. (5a. Ed.) Elsevier.

Hall, J. E. (2021). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*. (14a Ed.). Elsevier Health Sciences.

Harrison, T. R., Kasper, D. L., Hauser, S., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Longo, D. L., y Loscalzo, J. (2018). *Harrison: principios de medicina interna* (20a. Ed.). McGraw-Hill.



Anexos



GOT-LQ

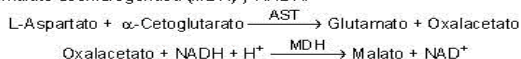
NADH. Cinético UV. IFCC rec. Líquido

**Determinación cuantitativa de aspartato aminotransferasa
GOT (AST)
IVD**

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

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



La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio, determinada fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de AST en la muestra ensayada¹.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La AST es una enzima intracelular, se encuentra en niveles altos en el músculo del corazón, las células del hígado, las células del músculo esquelético y en menores cantidades en otros tejidos.

Aunque un nivel elevado de AST en suero no es específico de enfermedad hepática se emplea principalmente para su diagnóstico y seguimiento, junto con otras enzimas como la ALT y ALP. También se emplea en el control post-infarto, en pacientes con desórdenes del músculo esquelético, y en otras afecciones^{1,4,5}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1	TRIS pH 7,8	80 mmol/L
Tampón	Lactato deshidrogenasa (LDH)	800 U/L
	Malato deshidrogenasa (MDH)	600 U/L
	L-Aspartato	200 mmol/L
R 2	NADH	0,18 mmol/L
Substrato	A-Cetoglutarato	12 mmol/L

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT):

Mezclar: 4 vol. (R1) Tampón + 1 vol. de (R2) Substrato.

Estabilidad: 21 días a 2-8°C o 72 horas a temperatura ambiente (15-25°C).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia del Blanco a 340 < 1,00.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 340 nm.
- Baño termostatable a 25°C, 30°C ó 37°C (± 0,1°C)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma¹. Estabilidad de la muestra: 7 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 340 nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura constante: 25°C / 30°C / 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.
- Pipetear en una cubeta:

RT (mL)	1,0
Muestra (µL)	100

- Mezclar, incubar 1 minuto.
- Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronómetro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.
- Calcular el promedio de la diferencia de absorbancia por minuto (ΔA/min).

CÁLCULOS

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L de AST}$$

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 µmol de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

Factores de conversión de temperaturas

Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

Temperatura de medición	Factor para convertir a		
	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

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control y valorados:

SPINROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

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

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 0 U/L hasta el límite de linealidad 467 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/10 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (U/L)	48,1	159	47,4	156
SD	0,56	0,57	1,42	4,35
CV (%)	1,16	0,36	3,00	2,79

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,00053 ΔA/min.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r): 0,99956.

Ecuación de la recta de regresión: y = 1,042x - 0,342.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Los anticoagulantes de uso corriente como la heparina, EDTA oxalato o fluoruro no afectan los resultados. La hemólisis interfiere con la determinación¹.

Se han descrito varias drogas y otras substancias que interfieren en la determinación de la AST^{2,3}.

NOTAS

SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Murray R. Aspartate aminotransferase. Kaplan A. et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis-Toronto, Princeton 1984; 1112-1116.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref. 41270		R1: 1 x 60 mL R2: 1 x 15 mL
Ref. 41272	Cont.	R1: 1 x 240 mL R2: 1 x 60 mL
Ref. 41273		R1: 1 x 480 mL R2: 1 x 120 mL





CE GPT (ALT)-LQ

GPT (ALT)

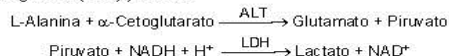
NADH. Cinético UV. IFCC rec. Líquido

Determinación cuantitativa de alanina aminotransferasa GPT (ALT) IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La alanina aminotransferasa (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 NADH:



La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de ALT en la muestra ensayada¹.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La ALT es una enzima intracelular, se encuentra principalmente en las células del hígado y el riñón. Su mejor aplicación es en el diagnóstico de las enfermedades del hígado. Se observan niveles elevados en enfermedades hepáticas como la hepatitis, enfermedades de los músculos y traumatismos. Cuando se emplean en conjunción con la AST ayuda en el diagnóstico de infartos de miocardio, ya que el valor de la ALT se mantiene dentro de los límites normales y aumenta en los niveles de AST^{1,4,5}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1	TRIS pH 7,8	100 mmol/L
Tampón	Lactato deshidrogenasa (LDH)	1200 U/L
	L-Alanina	500 mmol/L
R 2	NADH	0,18 mmol/L
Substrato	α -Cetoglutarato	15 mmol/L

PRECAUCIONES

R1: H290-Puede ser corrosivo para los metales.
Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT):
Mezclar: 4 vol. (R1) Tampón + 1 vol. de (R2) Substrato.
Estabilidad: 21 días a 2-8°C o 72 horas a temperatura ambiente (15-25°C).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia del blanco a 340 nm < 1,00.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 340 nm.
- Baño termostatable a 25°C, 30°C ó 37°C (\pm 0,1°C)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma¹. Estabilidad de la muestra: 7 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 340 nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura constante: 25°C / 30°C / 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.
- Pipetear en una cubeta:

RT (mL)	1,0
Muestra (μ L)	100
- Mezclar, incubar 1 minuto.
- Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronómetro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.

- Calcular el promedio de la diferencia de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$).

CÁLCULOS

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L de ALT}$$

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 μ mol de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

Factores de conversión de temperaturas

Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

Temperatura de medición	Factor para convertir a		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,32	1,82
30°C	0,76	1,00	1,39
37°C	0,55	0,72	1,00

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINCONTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA^{4,5}

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

En recién nacidos normales se han descrito valores de referencia hasta el doble del de los adultos, debido a su inmadurez hepática, estos valores se normalizan aproximadamente a los tres meses.

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 0 U/L hasta el límite de linealidad 400 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/10 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.

Precisión:

	Intraserie (n= 20)	Interserie (n= 20)
Media (U/L)	42,0	116
SD	0,47	0,42
CV (%)	1,11	0,36

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,00052 $\Delta A / \text{min}$.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x). Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r^2): 0,99597.

Ecuación de la recta de regresión: $y=1,1209x + 1,390$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Los anticoagulantes de uso corriente como la heparina, EDTA oxalato o fluoruro no afectan los resultados. La hemólisis interfiere con la determinación¹. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la ALT^{2,3}.

NOTAS

SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Murray R. Alanine aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1088-1090.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. AACC 1999.
- Tietz N.W. et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref. 41280		R1: 1 x 60 mL R2: 1 x 15 mL
Ref. 41282	Cont.	R1: 1 x 240 mL R2: 1 x 60 mL
Ref. 41283		R1: 1 x 480 mL R2: 1 x 120 mL



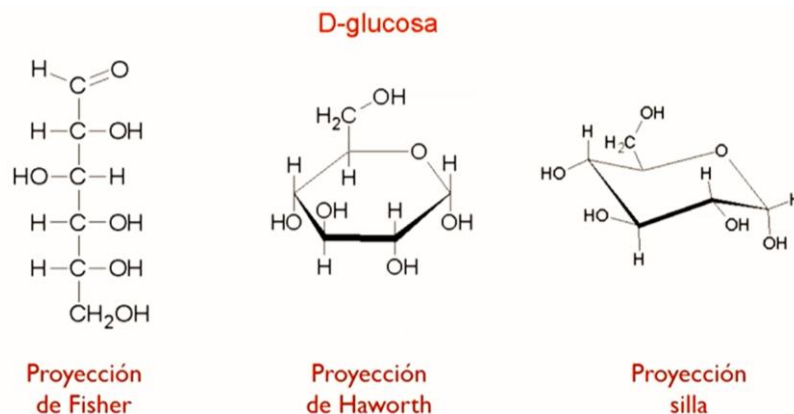
Determinación de glucosa sérica

Objetivos:

- Determinar cuantitativamente la concentración de glucosa sérica.
- Conocer la diferencia entre intolerancia a los carbohidratos y diabetes mellitus.
- Correlacionar clínicamente el aumento y disminución de la concentración de glucosa sérica.

Generalidades

El metabolismo de los hidratos de carbono incluye a las principales rutas del metabolismo celular. Entre los azúcares utilizados como fuente de energía para la célula, destaca la D-glucosa, que corresponde a una aldohexosa, esto quiere decir que estructuralmente es un aldehído [CHO] con seis átomos de carbono.



Este tipo de molécula es la base de muchos polisacáridos y desempeña un papel central en el metabolismo de los carbohidratos. Las principales rutas metabólicas que involucra de manera directa o indirecta a este tipo de compuestos son:

- Las rutas relacionadas con el **glucógeno**. Son importantes para mantener un correcto estatus energético en el organismo, especialmente en músculo e hígado. Dentro de ellas tenemos a la **glucogenólisis**, comprende las reacciones de degradación del glucógeno para la formación de glucosa, mientras que en un exceso de glucosa activa las reacciones inversas que se involucran en la producción de glucógeno y en conjunto reciben el nombre de **glucogenogénesis**.
- La **glucólisis** es la ruta metabólica relacionada con la degradación de glucosa hasta la obtención de ATP.
- A través de la **gluconeogénesis** es posible obtener glucosa a partir de moléculas que no tienen nada que ver con los carbohidratos, tal es el caso de aminoácidos y lípidos.
- La ruta de las **pentosas fosfato** ofrece el poder reductor mediante la síntesis de NADPH y otros monosacáridos.
- Como intermediario metabólico, el **piruvato** juega un papel fundamental en las rutas catabólicas como la **fermentación** y la **descarboxilación oxidativa**.



La regulación de los niveles de glucosa en sangre está relacionado con la síntesis y secreción de insulina y glucagón. En el estado hiperglucémico postprandial las células β de los islotes pancreáticos secretan insulina, que desempeña un rol crucial en el transporte de la glucosa al interior de las células, estableciendo un mecanismo de regulación de la concentración de glucosa en sangre. Por otra parte, el glucagón en estado hipoglucémico es producido y liberado a la circulación por las células α de los mismos islotes pancreáticos. A nivel hepático, el glucagón aumenta la liberación de glucosa mediante la inhibición de la síntesis de glucógeno y la estimulación tanto de la glucogenólisis como de la gluconeogénesis, de tal forma que aumenta el nivel de glucosa en sangre y se llega al equilibrio. Estos mecanismos son de vital importancia para mantener un adecuado nivel de glucosa en sangre y garantizar el buen funcionamiento del organismo, sin embargo, en el desarrollo de algunas patologías el equilibrio se va hacia el estado hiperglucémico relacionado con el desarrollo de la diabetes mellitus.

Significado Clínico

La diabetes mellitus (DM) comprende un grupo de trastornos metabólicos frecuentes que comparten el fenotipo de la hiperglucemia. Existen varios tipos diferentes de DM resultado de una interacción compleja entre genética y factores ambientales. De acuerdo con la causa de la DM, los factores que contribuyen a la hiperglucemia pueden ser deficiencia de la secreción de insulina, disminución de la utilización de glucosa o aumento de la producción de ésta. La DM genera diversas manifestaciones fisiopatológicas en el organismo.

De acuerdo a la modificación de la NOM-015-SSA2-2010, Para la prevención, tratamiento y control de diabetes mellitus, se deben considerar los siguientes puntos antes de establecer un diagnóstico de Diabetes. El diagnóstico de DM se establece, si se cumplen cualquiera de los siguientes criterios:

- Presencia de síntomas clásicos (polifagia, polidipsia y poliuria) y una glucemia plasmática casual >200 mg/dL (11,1 mmol/L).
- Glucemia plasmática en ayuno >126 mg/dL (7 mmol/L); o bien
- Glucemia >200 mg/dL (11,1 mmol/L) a las dos horas después de carga oral de 75 g de glucosa disuelta en agua. En ausencia de hiperglucemia inequívoca, con descompensación metabólica aguda, el diagnóstico debe confirmarse repitiendo la prueba otro día.
- Se establece el diagnóstico de glucosa anormal en ayuno, cuando la glucosa plasmática o en suero es >110 mg/dL (6,1 mmol/L) y <126 mg/dL (6,9 mmol/L).
- Se establece el diagnóstico de intolerancia a la glucosa, cuando la glucosa plasmática, a las dos horas post carga, es >140 mg/dl (7,8 mmol/L) y <200 mg/dL (11,1 mmol/L).
- Se establece diagnóstico de diabetes gestacional.
- Antes de efectuar la prueba de tolerancia a la glucosa, se deberá realizar la prueba de detección en toda embarazada entre las semanas 24 y 28 de gestación. Si una hora después de una carga de 50 g de glucosa por vía oral, se encuentra una glucemia plasmática >140 mg/dL, se efectuará la prueba diagnóstica.
- Se establece el diagnóstico de diabetes gestacional, si durante las semanas 24 a 28 del embarazo se presentan dos o más de los siguientes valores: en ayuno >105 mg/dL; y, después de una carga de glucosa en ayuno de 100 g, valores superiores a 190 mg/dl a la hora post carga, 165 mg/dL a las dos horas pos carga y 145 mg/dL a las tres horas.



Los valores que deben ser manejados en personas con diabetes son:

Metas del tratamiento	Bueno	Regular	Malo
Glucemia en ayunas (mg/dL)	<110	110-140	>140
Glucemia postprandial de 2 h. (mg/dL)	<140	<200	>240
Colesterol total (mg/dL)	<200.0	200-239	≥240
Triglicéridos en ayuno (mg/dL)	<150	150-200	>200
Colesterol HDL (mg/dL)	>40	35-40	<35
P.A. (mm de Hg)	<120/80	121-129/81-84	>130/85**
IMC ¹	<25	25-27	>27
HbA1c ²	<6.5%mg/dl	6.5-8%mg/dl	>8%mg/dl

¹ Índice de Masa Corporal

² Hemoglobina Glucosilada

Materiales, reactivos y equipo

Materiales

- Una Jeringa de 5 mL o tubo Vacutainer rojo o morado
- Una Ligadura
- Algodón
- Tres celdas de 1cm paso de luz
- Seis tubos de ensaye
- En caso de usar tubo Vacutainer aguja y camisa de extracción
- Una Gradilla

Equipo

- Espectrofotómetro
- Centrifuga
- Balanza de dos platos
- Pipeta automática 1000 µL
- Pipeta automática 200 µL

Servicios. Electricidad y agua.

Técnica

- Ver anexo de la práctica.

Reactivos

- Suero separado lo antes posible de los hematíes o plasma
- Estuche de Glucosa-LQ (Spinreact)
- Alcohol al 70%
- EDTA



Resultados

Interpretar los resultados obtenidos.

Discutir la correlación clínica del aumento y disminución de glucosa relacionándolas con las patologías más frecuentes.

Cuestionario

1. *Indicar las causas de hipoglucemia.*
2. *Describe brevemente los diferentes tipos de diabetes y explica la diferencia entre DM tipo 1 y tipo 2.*
3. *¿Qué función tiene la insulina, glucagón y catecolaminas en la regulación de la glucosa?*
4. *¿Qué importancia tiene la hemoglobina glucosilada como parte del control del diabético?*
5. *¿Qué función tienen los cuerpos cetónicos en la diabetes?*

Referencias

Baynes, J. W., y Dominiczak, M. H. (2019). *Bioquímica médica*. (5a. Ed.) Elsevier.

Hall, J. E. (2021). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*. (14a. Ed.). Elsevier Health Sciences.

Harrison, T. R., Kasper, D. L., Hauser, S., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Longo, D. L., & Loscalzo, J. (2018). *Harrison: principios de medicina interna* (20a. Ed.). McGraw-Hill.

NORMA Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010. (2010, 23 de noviembre). NORMA Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010, *Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus*. Diario Oficial de la Federación. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5168074&fecha=23/11/2010#gsc.tab=0.



Anexo

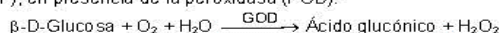


**Determinación cuantitativa de glucosa
IVD**

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La glucosa oxidasa (GOD) cataliza la oxidación de glucosa a ácido glucónico. El peróxido de hidrógeno (H₂O₂) producido se detecta mediante un aceptor cromogénico de oxígeno, fenol, 4-aminofenazona (4-AF), en presencia de la peroxidasa (POD):



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La glucosa es la mayor fuente de energía para las células del organismo; la insulina facilita la entrada de glucosa en las células.

La diabetes mellitus es una enfermedad que se manifiesta por una hiperglucemia, causada por un déficit de insulina^{1a,8}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R	TRIS pH 7.4	92 mmol/L
	Fenol	0.3 mmol/L
	Glucosa oxidasa (GOD)	15000 U/L
	Peroxidasa (POD)	1000 U/L
	4 - Aminofenazona (4-AF)	2.6 mmol/L
GLUCOSE CAL	Patrón primario acuoso de Glucosa 100 mg/dL	

PREPARACIÓN

El reactivo y el patrón están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias (A) del Blanco a 505 nm \geq 0.32.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm.
- Cubetas de 1.0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma, libre de hemólisis¹.

El suero debe separarse lo antes posible del coágulo.

Estabilidad de la muestra: La glucosa en suero o plasma es estable 3 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 505 nm (490-550)
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura: 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1.0	1.0	1.0
Patrón (Nota 1,2,3) (µL)	--	10	--
Muestra (µL)	--	--	10

- Mezclar e incubar 10 minutos a 37°C ó 20 min a temperatura ambiente (15-25°C).
- Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

CÁLCULOS

$$\frac{(A)\text{Muestra} - (A)\text{Blanco}}{(A)\text{Patrón} - (A)\text{Blanco}} \times 100 \text{ (Conc. Patrón)} = \text{mg/dL de glucosa en la muestra}$$

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

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar los instrumentos, los reactivos y la calibración. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

Suero o plasma:

$$60 - 110 \text{ mg/dL} \approx 3,33 - 6,10 \text{ mmol/L}$$

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 0,3709 mg/dL hasta el límite de linealidad 500 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Media (mg/dL)	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
	98,5	264,6	92,5	250
SD	0,5754	1,2733	2,76	6,44
CV (%)	0,59	0,48	2,98	2,57

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,0039 (A).

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r)²: 0,99492.

Ecuación de la recta de regresión: y=1,104x - 1,249.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No se han observado interferencias con hemoglobina hasta 19 g/L y bilirrubina hasta 100 mg/L¹.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la glucosa^{3,4}.

NOTAS

- GLUCOSE CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFÍA

- Kaplan L.A. Glucose. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis, Toronto, Princeton 1984; 1032-1036.
- Trinder P. Ann Clin Biochem 1969; 6: 24-33.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N Wet al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref. 41010	R: 2 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL
Ref. 41012	R: 2 x 100 mL, CAL: 1 x 2 mL
Ref. 41011	R: 2 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref. 41013	R: 1 x 1000 mL, CAL: 1 x 5 mL





Determinación de hemoglobina glicosilada en sangre

Objetivos:

- *Determinar la hemoglobina glicosilada (HbA1c) en sangre.*
- *Correlacionar clínicamente el aumento y disminución de la concentración de la hemoglobina glicosilada (HbA1c).*

Generalidades

La prueba de hemoglobina glicosilada (HbA1c) es un examen de sangre para la diabetes tipo 2 y prediabetes. Mide el nivel promedio de glucosa o azúcar en la sangre durante los últimos tres meses. Los médicos pueden usar la prueba HbA1c sola o en combinación con otras pruebas de diabetes para hacer un diagnóstico. También utilizan la HbA1c para ver lo bien que está manejando su diabetes. Esta prueba es diferente a los controles de azúcar en la sangre que las personas con diabetes se hacen todos los días.

El resultado de su prueba HbA1c se entrega en porcentajes. Mientras más alto sea el porcentaje, mayor es su nivel de azúcar en la sangre: Un nivel de HbA1c normal es menor al 5,7%. La prediabetes se ubica entre 5,7 a 6,4%. Tener prediabetes es un factor de riesgo para desarrollar diabetes tipo 2. Las personas con prediabetes pueden necesitar repetir las pruebas cada año. La diabetes tipo 2 se ubica por encima del 6,5%.

Este método utiliza, la interacción de antígeno y anticuerpo, para directamente HbA1c en sangre total. La hemoglobina total y HbA1c tienen la misma absorción inespecífica para las partículas de látex. Cuando se añade el anticuerpo monoclonal antiHbA1c (ratón) (R2), se forma el complejo látex- HbA1c- anticuerpo HbA1c de ratón. Se produce aglutinación cuando el anticuerpo policlonal IgG de cabra anti-ratón interacciona con el anticuerpo monoclonal. La cantidad de aglutinación se mide como absorbancia. El valor de HbA1c se obtiene de la curva de calibración.

Significado Clínico

A lo largo de la vida circulatoria de los hematíes, se forma continuamente hemoglobina A1c, por la adición de glucosa al grupo N- terminal de la cadena beta de la hemoglobina. Este proceso, que es no –enzimático, refleja la exposición media de hemoglobina a glucosa durante un periodo prolongado. En un estudio se mostró que la Hemoglobina A1c se incrementa 2-3 veces en individuos con diabetes en comparación con individuos normales. Varios investigadores han recomendado que Hemoglobina A1c sirve como indicador del control metabólico de diabéticos, ya que los niveles de Hemoglobina A1c alcanzan valores normales para diabéticos en control metabólico. La Hemoglobina A1c se ha definido como la ‘fracción rápida’ de hemoglobina (Hb1A, A1B, A1c) que eluye la primera en una cromatografía de columna con resinas de intercambio catiónico. La hemoglobina no-glicosilada, que consiste en la mayor parte de hemoglobina, se ha designado como HbA0. Este procedimiento utiliza una reacción antígeno-anticuerpo para determinar directamente la concentración de HbA1c. Valores de HbA1c >6.5% se han relacionado en ciertas poblaciones con eventos cardiovasculares.



Materiales, reactivos y equipo

Materiales

- Algodón
- Lanceta
- Portalanceta
- hisopos

Reactivos

- Sangre capilar
- Estuche de tiras para hemoglobina glicosilada (BioHermes)
- Alcohol al 70%

Equipo

- Analizador GlucoA1c portátil (BioHermes)

Servicios. Electricidad y agua.

Técnica

- Revisar que el analizador este en óptimas condiciones.
- Insertar el chip al analizador revisando que el código coincida con el del equipo.
- Insertar la tira en el analizador, en forma firme sin que esta se doble o curve.
- Tomar la muestra capilar, limpiando el dedo índice con algodón al 70% y haciendo una punción con la lanceta.
- Tomar con el dispensador del estuche una porción de sangre capilar, hasta que el hilo se muestre completamente rojo.
- Colocar tres gotas del buffer A en el analizador, evitando que la solución lleve aire.
- Dejar que el equipo se calibre.
- Colocar el dispensador con la muestra sobre la tira en el analizador, hasta escuchar los tres vips.
- Esperar 130 segundos hasta que el analizador lo indique.
- Colocar tres gotas del buffer B en el analizador, evitando que la solución lleve aire.
- Esperar a que el instrumento muestre el resultado.
- Apague el analizador
- Retire la tira del analizador.
- Limpie y seque con un hisopo la celda donde se colocan los buffers.

Resultados

Interpretar los resultados obtenidos.

Discutir la correlación clínica del aumento y disminución de la hemoglobina glicosilada (HbA1c).

Cuestionario

1. Explique la relación de la hemoglobina glicosilada (HbA1c) con la diabetes mellitus tipo 2.
2. Mencione el valor de referencia de la hemoglobina glicosilada (HbA1c).
3. Describa el metabolismo de la hemoglobina glicosilada (HbA1c).



Referencias

Baynes, J. W., y Dominiczak, M. H. (2019). *Bioquímica médica*. (5a. Ed.) Elsevier.

BioHermes A1C EZ 2 0 Demostration Video. (2016). <https://www.youtube.com/watch?v=HIWaHlb1Cc8>

Bracho-Nava, M., Stepenka-Alvarez, V., Sindas-Villasmil, M., Rivas de Casal, Y., Bozo de González, M., y Duran-Mojica, A. (2015). Hemoglobina Glicosilada o hemoglobina glicada, ¿Cuál de las dos? Saber. *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, 27(4), 521-529.

Figuroa, C. L., Suárez-Cadena, F. C., Ochoa-Díaz, A. F., Rengifo-Quintero, L. J., Isaza-Angarita, J. R. (2018). Hemoglobina glicosilada y eventos cardiovasculares en pacientes diabéticos de un hospital universitario. *Acta Medica colombiana*, 43(2), 74-80.

Hall, J. E. (2021). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*. (14a Ed.). Elsevier Health Sciences.

Harrison, T. R., Kasper, D. L., Hauser, S., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Longo, D. L., y Loscalzo, J. (2018). *Harrison: principios de medicina interna* (20a. Ed.). McGraw-Hill.

NORMA Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010. (2010, 23 de noviembre). NORMA Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. Diario Oficial de la Federación. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5168074&fecha=23/11/2010#gsc.tab=0



Determinación de deshidrogenasa láctica sérica

Objetivos:

- *Determinar cuantitativamente la concentración de la enzima deshidrogenasa láctica sérica.*
- *Interpretar los resultados obtenidos relacionándolos con las patologías más comunes de acuerdo a los valores de referencia.*

Generalidades

La deshidrogenasa láctica es una enzima intracelular distribuida en los tejidos de organismo, especialmente en riñón, corazón, músculo esquelético, cerebro, hígado y pulmón. Su elevación suele indicar muerte celular y fuga de la enzima de la célula.

Aunque la elevación de LDH es inespecífica, esta prueba es útil para confirmar infarto del miocardio o pulmonar cuando se combina con otros estudios. Por ejemplo, la LDH permanece elevada durante un tiempo más prolongado que la CK en el infarto del miocardio.

También es útil en el diagnóstico diferencial de distrofia muscular y anemia perniciosa. Sin embargo, se pueden obtener más datos específicos clasificando a la LDH en sus 5 isoenzimas, (al reportar los valores de LDH, se refieren a la LDH total).

La LDH también es útil como marcador tumoral en el seminoma o tumor de células germinativas, especialmente cuando en este tumor no se produce AFP ni gonadotropina coriónica humana.

Significado Clínico

- *La LDH se eleva en el infarto al miocardio 36 a 55 h. Después del infarto se eleva la cifra, que continua durante un tiempo más prolongado que la AST (GOT) o CPK (de tres a diez días). Mediante las isoenzimas de LDH se puede hacer diagnóstico diferencial de infarto agudo de miocardio.*
- *En infarto pulmonar: la LDH se eleva dentro de las primeras 24 h después de iniciado el dolor. El patrón caracterizado por una AST normal y LDH elevada que se nivela de uno a dos días después del episodio doloroso indica infarto pulmonar.*
- *La LDH también aumenta en enfermedades como:*
 - a. Insuficiencia cardíaca congestiva*
 - b. Problemas hepáticos (cirrosis, alcoholismo y hepatitis viral aguda)*
 - c. Neoplasias malignas o cáncer*
 - d. Hipotiroidismo*
 - e. Neumopatías (infarto pulmonar)*
 - f. Patologías del músculo esquelético (distrofia muscular)*
 - g. Anemia megaloblástica y perniciosa*
 - h. Anemia de células falciformes*
- *La angina y pericarditis no provocan elevación de la deshidrogenasa láctica.*
- *Cuando la cifra de LDH disminuye significa que la respuesta al tratamiento contra el cáncer es buena.*



- *La LDH urinaria se eleva en:*
 - i. *Cáncer del riñón o vejiga*
 - j. *Glomerulonefritis*
 - k. *Hipertensión maligna*
 - l. *Nefritis lúpica*
 - m. *Necrosis tubular aguda*
 - n. *Trasplante renal y rechazo a homoinjerto*
 - o. *Pielonefritis*

Materiales, reactivos y equipo

Materiales

- *Una Jeringa de 5 mL o tubo Vacutainer rojo*
- *Una Ligadura*
- *Algodón*
- *Tres celdas de 1cm paso de luz*
- *Seis tubos de ensaye*
- *En caso de usar tubo Vacutainer aguja y camisa de extracción*
- *Una Gradilla*

Reactivos

- *Suero separado lo antes posible de los hematíes o plasma*
- *Estuche de LDH (Spinreact)*
- *Alcohol al 70%*
- *EDTA al 1%*

Equipo

- *Espectrofotómetro*
- *Centrifuga*
- *Balanza de dos platos*
- *Pipeta automática 1000 μ L*
- *Pipeta automática 200 μ L*

Servicios. *Electricidad y agua.*

Técnica

- *Ver anexo de la práctica*

Resultados

Interpretar los resultados obtenidos.

Discutir la correlación clínica del aumento y disminución de LDH sérica.



Cuestionario

1. *Investiga y enlista cuales son las patologías donde se eleva y disminuye la LDH*
2. *Explica la relación que existe entre LDH, AST y CPK*
3. *Explica de que forma el ejercicio extenuante interfiere en la determinación de la LDH*
4. *Investiga cuales son las 5 isoenzimas de la LDH*
5. *Investiga cuales son los órganos donde se localizan en mayor concentración.*

Referencias

Baynes, J. W., y Dominiczak, M. H. (2019). *Bioquímica médica*. (5a. Ed.) Elsevier.

Hall, J. E. (2021). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*. (14a. Ed.). Elsevier Health Sciences.

Harrison, T. R., Kasper, D. L., Hauser, S., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Longo, D. L., y Loscalzo, J. (2018). *Harrison: principios de medicina interna*. (20ª. Ed.). McGraw-Hill.



Anexo



LDH

Piruvato. Cinética UV. DGKC

Determinación cuantitativa de lactato deshidrogenasa (LDH) IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La lactato deshidrogenasa (LDH) cataliza la reducción del piruvato por el NADH, según la siguiente reacción:



La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de LDH en la muestra ensayada¹.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La lactato deshidrogenasa (LDH) es una enzima, distribuida por todo el organismo humano. Las mayores concentraciones de LDH se encuentran en el hígado, corazón, riñón, músculo esquelético y eritrocitos.

El nivel de LDH en suero está elevado en pacientes con enfermedades del hígado, infartos de miocardio, alteraciones renales, distrofias musculares y anemias^{1,4,5}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1	Imidazol	65 mmol/L
Tampón	Piruvato	0,6 mmol/L
R 2	NADH	0,18 mmol/L
Substrato		

PRECAUCIONES

R1: H360-Puede perjudicar la fertilidad o dañar al feto. Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT):

Disolver (→) 1 comprimido de R2 en un vial de R1.

Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

Estabilidad: 2 días a 2-8°C o 12 horas a temperatura ambiente (15-25°C).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar las tabletas si aparecen fragmentadas.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias del Blanco a 340 < 1,00.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 340 nm.
- Baño termostatable a 25°C, 30°C o 37°C (± 0,1°C)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero¹. Separado lo antes posible de los hematies. No usar oxalatos como anticoagulantes ya que interfieren en los resultados. No usar muestras hemolizadas. Estabilidad: 2 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 340 nm

Cubeta: 1 cm paso de luz

Temperatura constante: 25°C / 30°C / 37°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.

3. Pipetear en una cubeta:

	25° - 30°C	37°C
RT (mL)	3,0	3,0
Muestra (µL)	100	50

4. Mezclar, incubar 1 minuto.

5. Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronómetro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.

6. Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto (ΔA/min).

CÁLCULOS

25°- 30°C ΔA/min x 4925 = U/L LDH

37°C ΔA/min x 9690 = U/L LDH

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 µmol de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

Factores de conversión de temperaturas

Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

Temperatura de medición	Factor par a convertir a		
	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

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

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

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 2 U/L hasta el límite de linealidad 1500 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/10 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (U/L)	388	731	402	757
SD	7,44	12,49	12,45	16,96
CV (%)	1,92	1,71	3,10	2,24

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,00010 ΔA/min.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r)²: 0,987.

Ecuación de la recta de regresión: y= 1,6383x - 57,4835.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

La presencia de hemólisis interfiere con los resultados.

Algunos anticoagulantes como los oxalatos interfieren en la reacción¹.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la LDH^{2,3}.

NOTAS

SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

1. Pesce A. Lactate dehydrogenase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1124-117, 438.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
4. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
5. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 1001260 Cont. R1: 20 x 3 mL, R2: 20 → 3 mL

Ref: 1001261 Cont. R1: 1 x 150 mL, R2: 10 → 15 mL



Determinación de triglicéridos séricos

Objetivos:

- Determinar los triglicéridos séricos.
- Correlacionar clínicamente el aumento y disminución de la concentración de triglicéridos séricos.

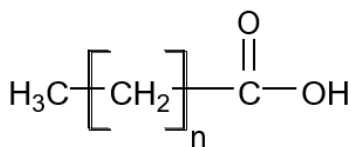
Generalidades

Los lípidos son un grupo de moléculas estructural y funcionalmente diversas. Por lo general, son hidrófobos, aunque muchos también poseen grupos polares o cargados además de un núcleo de hidrocarburo. La principal función de los lípidos es el almacenamiento de energía, sin embargo también participan en procesos de señalización y formación de estructuras de membrana. En la mayoría de las células el mayor porcentaje de lípidos se usa para formar membranas.

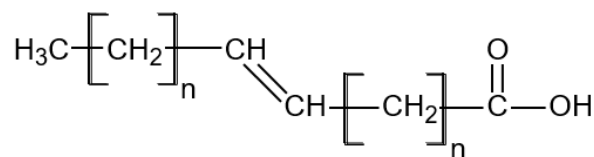
Los lípidos que forman las membranas, generalmente se caracterizan por el tipo de estructura: una fracción hidrofóbica (una cola no polar que es principalmente una región hidrocarbonada) y otra hidrofílica o polar (conocida como cabeza). En contraste con otra clase de biomoléculas, los lípidos no son generalmente solubles en agua debido a la gran porción de su estructura que es hidrocarbonada. Los lípidos tienden a asociarse unos con otros a través de interacciones no covalentes. En contacto con el agua, la naturaleza anfipática de los lípidos de membrana tiene una serie de consecuencias, incluida la formación de monocapas de superficie, bicapas, micelas y vesículas.

Los lípidos más simples son los ácidos grasos, que también son componentes de muchos lípidos más complejos. Los principales lípidos encontrados en la célula son los ácidos grasos (AG), los fosfolípidos, el colesterol, ésteres de colesterol.

Los AG pueden ser saturados o insaturados: Si solo hay enlaces sencillos entre carbonos vecinos en la cadena, se dice que un AG está saturado (los ácidos grasos se saturan con hidrógeno; en una grasa saturada, hay tantos átomos de hidrógeno unidos al esqueleto de carbono como sea posible). Cuando la cadena de carbohidrato contiene un enlace doble, se dice que el AG está insaturado, ya que ahora tiene menos hidrógenos. Si solo hay un enlace doble en un AG, está monoinsaturado, mientras que si hay varios enlaces dobles, está poliinsaturado.



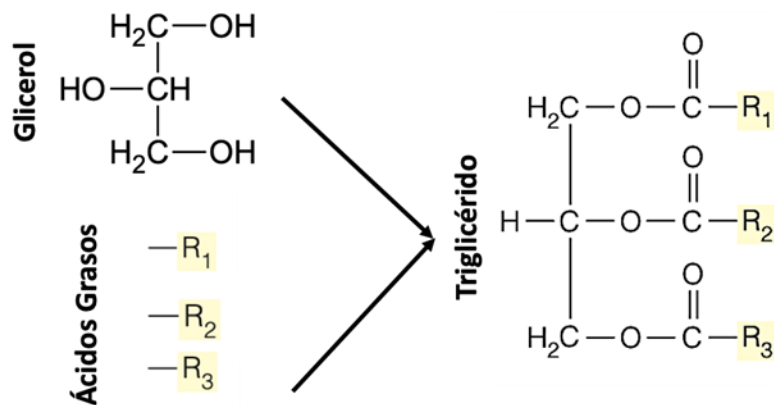
Ácido Graso Saturado



Ácido Graso Insaturado



El almacenamiento de AG en los organismos se realiza principalmente en forma de triacilgliceroles, triglicéridos o simplemente grasas. Estas sustancias son triésteres de ácidos grasos y glicerol, es decir, los triglicéridos son moléculas formadas por glicerol esterificado con tres ácidos grasos como se muestra en la siguiente figura.



Existe en los productos lácteos un AG llamado ácido fitánico que se caracteriza por ser un ácido con cadena ramificada, a las que algunas personas presentan deficiencias para la degradación lo que conlleva a la acumulación en plasma y tejidos (enfermedad de Refsum).

Es importante considerar la pertinencia de consumir los AG conocidos como esenciales (deben obtenerse con la dieta): el ácido linoléico (Omega 6) [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{-COOH}$] y linolénico (Omega 3) [$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}=\text{CH-CH}_2\text{-CH}=\text{CH-CH}_2\text{-CH}=\text{CH-}(\text{CH}_2)_7\text{-COOH}$].

El metabolismo de los TG puede resumirse en los siguientes tres pasos:

1. Las grasas se hidrolizan en el intestino delgado:
 - a. Glicerol y Ácidos grasos
2. Son reconstruidos al otro lado de la pared intestinal y se combinan con proteínas sintetizadas por el intestino (Quilomicrones).
3. De allí se distribuyen al resto de células del cuerpo (VLDL).

Una vez distribuidos al organismo, estos cumplen las funciones de reserva energética, aislante térmica o protección mecánica.

La medición de los TG séricos junto con el colesterol es útil para detectar ciertos trastornos genéticos y otros tipos de trastornos metabólicos, así como para caracterizar el riesgo de desarrollar enfermedad coronaria. El valor de los TG se emplea también para la estimación del colesterol LDL.



(C-LDL) mediante la ecuación de **Friedewald**.

$$LDL = \text{Colesterol} - \left[\left(\frac{TG}{5} \right) + HDL \right]$$

Esta fórmula es aplicable a las muestras con TG < 400 mg/dL (< 4.4 mmol/L), ya con valores superiores no es factible la correcta separación de las lipoproteínas.

Materiales, reactivos y equipo

Materiales

- Una Jeringa de 5 mL o tubo Vacutainer rojo o morado
- Una Ligadura
- Algodón
- Tres celdas de 1cm paso de luz
- Seis tubos de ensaye
- En caso de usar tubo Vacutainer aguja y camisa de extracción
- Una Gradilla

Reactivos

- Suero separado lo antes posible de los hematíes o plasma
- Estuche de triglicéridos (Spinreact)
- Alcohol al 70%
- EDTA al 1%

Equipo

- Espectrofotómetro
- Centrifuga
- Balanza de dos platos
- Pipeta automática 100 μ L
- Pipeta automática 20 μ L

Servicios. Electricidad y agua.

Técnica

- Ver anexo de la práctica

Resultados

Interpretar los resultados obtenidos

Discutir la correlación clínica del aumento y disminución de los triglicéridos séricos



Questionario

1. *Realice un esquema sobre el metabolismo de los triglicéridos.*
2. *¿Qué son las lipoproteínas?*
3. *¿Cuál de las lipoproteínas es llamada colesterol bueno y por qué?*
4. *¿Qué hormonas están implicadas en el metabolismo de los triglicéridos?*
5. *Enlista la cantidad de triglicéridos que tiene cada una de las lipoproteínas*

Referencias

Baynes, J. W., y Dominiczak, M. H. (2019). *Bioquímica médica*. (5a. Ed.) Elsevier.

Hall, J. E. (2021). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*. (14a Ed.). Elsevier Health Sciences.

Harrison, T. R., Kasper, D. L., Hauser, S., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Longo, D. L., y Loscalzo, J. (2018). *Harrison: principios de medicina interna*. (20a. Ed.). McGraw-Hill.

NORMA Oficial Mexicana NOM-037-SSA2-2002. (2003, 21 de julio). *NORMA Oficial Mexicana NOM-SSA2-2002, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias*. Diario Oficial de la Federación.
<http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/037ssa202.html>



Anexo



TRIGLYCERIDES -LQ

Triglicéridos-LQ

GPO-POD. Líquido

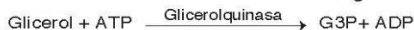
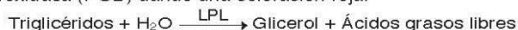
Determinación cuantitativa de triglicéridos IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO 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 hidrogeno (H₂O₂) por GPO.

Al final, el peróxido de hidrogeno (H₂O₂) reacciona con 4-aminofenazona (4-AF) y p-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa (POD) dando una coloración roja:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra ensayada^{1,2,3}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Los triglicéridos son grasas que suministran energía a la célula. Al igual que el colesterol, son transportados a las células del organismo por las lipoproteínas en la sangre.

Una dieta alta en grasas saturadas o carbohidratos puede elevar los niveles de triglicéridos.

Su aumento es relativamente inespecífico. Diversas dolencias, como ciertas disfunciones hepáticas (cirrosis, hepatitis, obstrucción biliar) o diabetes mellitus, pueden estar asociadas con su elevación^{3,6,7}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R (Nota 2)	GOOD pH 6.3	50 mmol/L
	p-Clorofenol	2 mmol/L
	Lipoproteína lipasa (LPL)	150000U/L
	Glicerol quinasa (GK)	500 U/L
	Glicerol-3-oxidasa (GPO)	3500 U/L
	Peroxidasa (POD)	440 U/L
	4 - Aminofenazona (4-AF)	0,1 mmol/L
ATP	0,1 mmol/L	
TRIGLYCERIDES CAL Patrón primario acuoso		200 mg/dL

PREPARACIÓN

El reactivo y el patrón están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Deterioro de los reactivos

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del blanco a 505 nm $\geq 0,26$.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero y plasma¹.

Estabilidad de la muestra: 5 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 505 (490-550) nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura: 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta (Nota 4).

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón (Nota 3) (μL)	--	10	--
Muestra (μL)	--	--	10

- Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C o 10 min. a 15-25°C.
- Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

CÁLCULOS

(A) Muestra - (A) Blanco x Conc. Patrón = mg/dL de triglicéridos en la muestra

(A) Patrón - (A) Blanco

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

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINCONTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, el reactivo y el material de calibración.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

Hombres: 40 – 160 mg/dL

Mujeres: 35 – 135 mg/dL

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,000 mg/dL hasta el límite de linealidad 1200 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Media (mg/dL)	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
	109	224	111	224
SD	0,64	1,01	3,74	7,91
CV (%)	0,58	0,45	3,38	3,52

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,0013 (A).

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r)²: 0,99810.

Ecuación de la recta de regresión: y = 0,9178x – 0,5426

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No se han observado interferencias con bilirubina < 170 μmol/L, hemoglobina < 10 g/L².

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de los triglicéridos^{4,5}.

NOTAS

- TRIGLYCERIDES CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- LCF (Lipid Clearing Factor) está integrado en el reactivo.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Buccolo G et al. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. Clin Chem 1973; 19 (5): 476-482.
- Fossati P et al. Clin. Chem 1982; 28(10): 2077-2090.
- Kaplan A et al. Triglycerides. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 437 and Lipids 1194-1206.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCPress, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCPress, 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCPress, 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCPress, 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 41030	R:1 x 50 mL,	CAL: 1 x 2 mL
Ref: 41031	R:2 x 150 mL,	CAL: 1 x 5 mL
Ref: 41032	R:1 x 100 mL,	CAL: 1 x 2 mL
Ref: 41033	R:1 x 500 mL,	CAL: 1 x 5 mL
Ref: 41034	R:1 x 1000 mL,	CAL: 1 x 5 mL



Determinación de colesterol sérico

Objetivos

- *Determinar cuantitativamente la concentración de colesterol sérico.*
- *Correlacionar clínicamente el aumento y disminución de la concentración de colesterol*

Generalidades

*El colesterol es un lípido esteroide derivado del ciclopentanoperhidrofenantreno, presente en todos los tejidos animales, en el plasma sanguíneo de los organismos vertebrados y es esencial para la membrana plasmática. Es precursor de las hormonas esteroideas, varias vitaminas y la bilis y es el componente esencial de la mielina. Una fracción del colesterol circulante se obtiene de los alimentos de la dieta (**vía exógena**) pero la mayor proporción se sintetiza en el hígado (**vía endógena**), su biosíntesis tiene lugar en el retículo endoplasmático liso y es transportado por las lipoproteínas.*

Significado clínico

Los niveles altos de colesterol circulante tienden a depositarse en la pared de las arterias, originando las placas de ateroma que junto con los macrófagos y células musculares producen un proceso inflamatorio que promueve una disfunción endotelial y trastorno hemostático, lo cual en conjunto puede inducir la rotura de la placa ateromatosa y el desprendimiento trombótico.

Todos estos fenómenos originan la aterosclerosis que permanece como la primera causa de mortalidad y responsable de patología cardiovascular.

El conocimiento de la participación del colesterol en la formación de la placa ateromatosa y diversos cuadros de cardiopatía isquémica, accidentes cerebrovasculares abrió un caudal de maniobras diagnósticas y terapéuticas para ayudar a prevenirlas.

Hay algunos problemas de salud que pueden provocar concentraciones de colesterol anormal, como:

- *Diabetes*
- *Enfermedad renal*
- *Síndrome ovárico poliquístico*
- *Embarazo y afecciones que incrementen los niveles de hormonas femeninas*
- *Glándula tiroides hipoactiva*

Existen trastornos hereditarios con alteraciones del metabolismo de los lípidos que presentan niveles anormales de colesterol y triglicéridos:

- *Hiperlipidemia familiar combinada*
- *Disbetalipoproteinemia familiar*
- *Hipercolesterolemia familiar*
- *Hipertrigliceridemia familiar*



El tabaquismo puede reducir el colesterol HDL.

Ciertos medicamentos pueden elevar los niveles de colesterol como anticonceptivos, diuréticos y betabloqueadores.

Materiales, reactivos y equipo

Materiales

- Una Jeringa de 5 mL o tubo Vacutainer rojo o morado
- Una Ligadura
- Algodón
- Tres celdas de 1cm paso de luz
- Seis tubos de ensaye
- En caso de usar tubo Vacutainer aguja y camisa de extracción
- Una Gradilla

Reactivos

- Suero separado lo antes posible de los hematíes o plasma
- Estuche de Colesterol (Spinreact)
- Alcohol al 70%
- EDTA al 1%

Equipo

- Espectrofotómetro
- Centrifuga
- Balanza de dos platos
- Pipeta automática 1000 μ L
- Pipeta automática 200 μ L

Servicios. Electricidad y agua.

Técnica

- Ver anexo de la práctica

Resultados

Interpretar los resultados obtenidos.

Discutir la correlación clínica del aumento y disminución del colesterol séricos.



Cuestionario

1. Explique el transporte del colesterol desde los tejidos periféricos hacia el hígado.
2. Mencione los valores de referencia del colesterol de acuerdo con la NOM-037-SSA2-2012, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias.
3. Mencione el metabolismo del colesterol.
4. Explique la relación de la concentración de colesterol con el riesgo de enfermedades cardiovasculares.
5. Teniendo en cuenta que los alimentos de origen vegetal no contienen colesterol, ¿Los vegetarianos pueden tener colesterol alto?

Referencias

Baynes, J. W., y Dominiczak, M. H. (2019). *Bioquímica médica*. (5a. Ed.) Elsevier.

Bishop. M. (2019). *Química Clínica*. Wolters Kluwer.

Feduchi, C. E., Blasco, C. I., Romero, M. C. S., y Yañez, C. E. (2021). *Bioquímica Conceptos Esenciales*. Médica Panamericana.

Hall, J. E. (2021). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*. (14a Ed.). Elsevier Health Sciences.

Harrison, T. R., Kasper, D. L., Hauser, S., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Longo, D. L., y Loscalzo, J. (2018). *Harrison: principios de medicina interna*. (20a. Ed.). McGraw-Hill.

McKee, T., y McKee, J. R. (2020). *Bioquímica; Las Bases Moleculares de la Vida*. (7ª. ed.). McGraw-Hill.

NORMA Oficial Mexicana NOM-037-SSA2-2002. (2003, 21 de julio). *NORMA Oficial Mexicana NOM-SSA2-2002, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias*. Diario Oficial de la Federación.
<http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/037ssa202.html>



Anexo



CHOLESTEROL -LQ

Colesterol

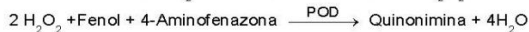
CHOD-POD. Líquido

**Determinación cuantitativa de colesterol
IVD**

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El colesterol presente en la muestra origina un compuesto coloreado según la reacción siguiente:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

El colesterol es una sustancia grasa presente en todas las células del organismo. El hígado produce naturalmente todo el colesterol que necesita para formar las membranas celulares y producir ciertas hormonas. La determinación del colesterol es una de las herramientas más importantes para el diagnóstico y clasificación de las lipemias. El aumento del nivel de colesterol es uno de los principales factores de riesgo cardiovascular^{3,6}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R	PIPES pH 6.9	90 mmol/L
	Fenol	26 mmol/L
	Colesterol esterasa (CHE)	1000 U/L
	Colesterol oxidasa (CHOD)	300 U/L
	Peroxidasa (POD)	650 U/L
	4 - Aminofenazona (4-AF)	0,4 mmol/L
CHOLESTEROL CAL	Patrón primario acuoso de Colesterol	

PREPARACIÓN

Todos los reactivos están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias (A) del Blanco a 505 nm $\geq 0,26$.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma^{1,2}. Estabilidad de la muestra 7 días a 2-8°C y 3 meses si se mantiene la muestra congelada (-20°C).

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 505 nm (500-550).
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura 37°C /15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón (Nota 1-2) (µL)	--	10	--
Muestra (µL)	--	--	10

- Mezclar e incubar 5 min a 37°C ó 10 min a 15-25°C.
- Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 60 minutos.

CÁLCULOS

$$\frac{(A)\text{Muestra}}{(A)\text{Patrón}} \times \text{Conc. Patrón} = \text{mg/dL de colesterol en la muestra}$$

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

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar los instrumentos, los reactivos y la calibración.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

Evaluación del riesgo^{5,6}:

Menos de 200 mg/dL	Normal
200-239 mg/dL	Moderado
240 o más	Alto

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 0,113 mg/dL hasta el límite de linealidad 750 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Media (mg/dL)	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
	99.789	185.309	96.346	184.962
SD (mg/dL)	1.213	1.405	4.196	12.773
CV (%)	1.216	0.758	4.355	6.906

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,0015 (A).

Exactitud: Los reactivos SPINREACT no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales.

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,9968.

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0,9797x + 2,2803$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No se han observado interferencias de hemoglobina hasta 5 g/L y bilirrubina hasta 10 mg/dL^{1,2}. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del Colesterol^{3,4}.

NOTAS

- CHOLESTEROL CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- LCF (Lipid Clearing Factor) está integrado en el reactivo.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Naito H.K. Cholesterol. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1194-11206 and 437.
- Meiattini F. et al. The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone Chromogenic System. Clin Chem 1978; 24 (12): 2161-2165.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 41020	Cont.	2 x 50 mL
Ref: 41022		2 x 100 mL
Ref: 41021		2 x 250 mL
Ref: 41019		1 x 1000 mL



IMPORTADORES EXCLUSIVOS: LAB CENTER DE MEXICO S.A. DE C.V.
Colina de las Termas #35 Fracc. Boulevardes Naucalpan, Edo. de México C.P. 53140
TEL.: 01 (55) 5360-6772 LADA SIN COSTO 01 800 500 SPIN (7746)
www.spinreact.com.mx info@spinreact.com.mx



Determinación de bilirrubinas séricas

Objetivos

- *Determinar cuantitativamente las concentraciones séricas de bilirrubinas indirecta, directa y total.*
- *Interpretar los resultados obtenidos relacionándolos con las patologías más comunes de acuerdo a los valores de referencia.*

Generalidades

La bilirrubina, es el resultado del catabolismo de la hemoglobina de los glóbulos rojos hemolizados por el sistema retículo endotelial del bazo. Es producida por el sistema retículo endotelial y eliminada por el hígado, que la excreta a la bilis. Es la sustancia que pigmenta a la bilis. En el suero existe normalmente una pequeña cantidad que se eleva cuando se produce una destrucción excesiva de eritrocitos o cuando el hígado no logra excretar las cantidades suficientes de la bilirrubina producida. Existen dos tipos de bilirrubinas en el organismo

*La **bilirrubina indirecta** unida a proteínas en el plasma, se conjuga en el hígado en presencia de la enzima glucoroniltransferasa y posteriormente es excretada en la bilis. Su elevación en plasma suele deberse a una destrucción exagerada de eritrocitos (hemólisis).*

***Bilirrubina conjugada libre**, soluble en agua, su elevación en plasma es más frecuente en casos de disfunción o de obstrucción hepática.*

El análisis habitual sólo cuantifica la bilirrubina total. Si esta es normal, se descarta cualquier alteración importante en la función excretora del hígado o en hemólisis excesiva de eritrocitos. Solamente cuando se eleva la bilirrubina total, es preciso distinguir entre directa o indirecta.

Significado clínico

La bilirrubina elevada acompañada de ictericia se puede deber a causas hepáticas, obstructivas o hemolíticas:

La ictericia hepatocelular es producida por lesión o enfermedad del parénquima hepático y se debe a:

Hepatitis viral.

- *Cirrosis*
- *Mononucleosis infecciosa*
- *Reacciones de ciertos medicamentos como clorpromazina*

La ictericia obstructiva suele presentarse por la obstrucción del conducto biliar común o del conducto hepático, por cálculos o por neoplasias. Esta situación provoca elevación de bilirrubina conjugada debido a la regurgitación de bilis.

La ictericia hemolítica se presenta cuando hay una producción exagerada de bilirrubina causada por procesos hemolíticos que elevan la bilirrubina no conjugada. Puede haber ictericia hemolítica en:

- *Enfermedad hemolítica del recién nacido (eritroblastosis fetal).*
- *Incompatibilidad de Rh.*
- *Incompatibilidad de grupo ABO (anemia hemolítica menos intensa).*



La bilirrubina indirecta no conjugada se eleva en:

- Anemias hemolíticas
- Traumatismo en presencia de un gran hematoma
- Infartos pulmonares hemorrágicos
- Síndrome de Crigler-Najjar
- Enfermedad de Gilbert (*hiperbilirrubinemia conjugada*)

La bilirrubina directa conjugada se eleva en:

- Cáncer de cabeza de páncreas
- Coledocolitiasis
- Síndrome de Dubin-Johnson

Materiales, reactivos y equipo

Materiales

- Una Jeringa de 5 mL o tubo Vacutainer rojo
- Una Ligadura
- Algodón
- Tres celdas de 1cm paso de luz
- Seis tubos de ensaye
- En caso de usar tubo Vacutainer aguja y camisa de extracción
- Una Gradilla

Equipo

- Espectrofotómetro
- Centrifuga
- Balanza de dos platos
- Pipeta automática 1000 μ L
- Pipeta automática 200 μ L

Reactivos

- Suero separado lo antes posible de los hematíes o plasma
- Estuche de Bilirrubina (Spinreact)
- Alcohol al 70%
- EDTA

Servicios. Electricidad y agua.

Técnica

- Ver anexo de la práctica



Resultados

Interpretar los resultados obtenidos.

Discutir la correlación clínica del aumento y disminución de bilirrubinas séricas.

Cuestionario

1. *Investiga la fisiopatología de:*
 1. *Bilirrubina directa*
 2. *Bilirrubina indirecta*
 3. *Bilirrubina total*
2. *¿Cuál es la aplicación clínica de la determinación de bilirrubinas?*
3. *Esquematiza los siguientes tipos de ictericias*
 1. *Pre-hepática*
 2. *Intra-hepática*
 3. *Post-hepática*
4. *Ejemplifica tres patologías, donde se caracterice por tener*
 1. *Bilirrubina indirecta elevada*
 2. *Bilirrubina directa elevada*
 3. *Bilirrubina indirecta normal y bilirrubina directa elevada*
 4. *Bilirrubina directa elevada y bilirrubina indirecta normal o disminuida*
5. *Explica porque los valores de referencia de las bilirrubinas son más elevados en los recién nacidos comparados con los valores de referencia de los adultos.*

Referencias

- Baynes, J. W., y Dominiczak, M. H. (2019). *Bioquímica médica*. (5a. Ed.) Elsevier.
- Bishop. M. (2019). *Química Clínica*. Wolters Kluwer.
- Feduchi, C. E., Blasco, C. I., Romero, M. C. S., y Yañez, C. E. (2021). *Bioquímica Conceptos Esenciales*. Médica Panamericana.
- Hall, J. E. (2021). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*. (14a Ed.). Elsevier Health Sciences.
- Harrison, T. R., Kasper, D. L., Hauser, S., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Longo, D. L., y Loscalzo, J. (2018). *Harrison: principios de medicina interna*. (20a. Ed.). McGraw-Hill.
- McKee, T., y McKee, J. R. (2020). *Bioquímica; Las Bases Moleculares de la Vida*. (7ª. ed.). McGraw-Hill.
- Secretaría de Salud. (2009). *Guía de Práctica Clínica Detección Oportuna, Diagnóstico y Tratamiento de la Hiperbilirrubinemia en Niños Mayores de 35 Semanas de Gestación Hasta las 2 Semanas de Vida Extrauterina*[Archivo PDF]. <http://evaluacion.ssm.gob.mx/pdf/gpc/eyr/IMSS-262-10.pdf>.
- Diagnóstico y Tratamiento de la Ictericia Guía de Práctica Clínica: Guía de Referencia Rápida*. México, CENETEC; 2019. Disponible en: <https://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/262GRR.pdf>



Anexo



BILIRUBIN T&D

Bilirrubina T & D

DMSO. Colorimétrico

Determinación cuantitativa de bilirrubina IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La bilirrubina se convierte en azobilirrubina mediante el ácido sulfanílico diazotado midiéndose fotométricamente. De las dos fracciones presentes en suero, bilirrubin-glucurónico y bilirrubina libre ligada a la albúmina, sólo la primera reacciona en medio acuoso (bilirrubina directa) precisando la segunda la solubilización con dimetilsulfóxido (DMSO) para que reaccione (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^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La bilirrubina se origina por la degradación de la hemoglobina. Es transportada del bazo al hígado y se excreta en la bilis. La hiperbilirrubinemia es el resultado de un incremento de la bilirrubina en plasma. Causas más probables de la hiperbilirrubinemia: Bilirrubina Total (T): Aumento de la hemólisis, alteraciones genéticas, anemia neonatal, alteraciones eritropoyéticas, presencia de drogas. Bilirrubina Directa (D): Colestasis hepática, alteraciones genéticas y alteraciones hepáticas^{1,3,6}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1 (D)	Ácido sulfanílico	30 mmol/L
	Ácido clorhídrico (ClH)	150 mmol/L
R 2 (T)	Ácido sulfanílico	30 mmol/L
	Ácido clorhídrico (ClH)	50 mmol/L
	Dimetilsulfóxido (DMSO)	7 mmol/L
R 3	Sodio nitrilo	29 mmol/L
Opcional	BILIRRUBIN CAL ^(Nota 3)	Ref: 1002250

PRECAUCIONES

R1/R2: H290-Puede ser corrosivo para los metales. H314-Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. EUH208-Contiene ácido sulfanílico. Puede provocar una reacción alérgica. Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

Todos los reactivos están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Desarrollo de color en el R. 2.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 555 nm.
- Cubetas de 1.0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma libre de hemólisis (separado lo antes posible de los hematíes). Proteger de la luz. Estabilidad de la muestra separada ya de los hematíes: 4 días a 2-8°C o 2 meses a -20°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 555 nm (530-580)
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura: 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:^(Nota 2)

	Blanco	B. Total	Blanco	B. Directa
R 1 (D) (mL)	--	--	1,5	1,5
R 2 (T) (mL)	1,5	1,5	--	--
R 3 (µL)	--	50	--	50
Muestra ^(Nota 1) /Calibrador (µL)	100	100	100	100

- Mezclar e incubar exactamente 5 minutos a 15-25°C.
- Leer la absorbancia (A).

CÁLCULOS

- Con Calibrador:

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco Muestra}}{(A) \text{ Calibrador} - (A) \text{ Blanco Calibrador}} \times \text{Conc. Calibrador} = \text{mg/dL de bilirrubina}$$

- Con Factor:

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

***Factor:**

$$\frac{\text{Concentración del Calibrador}}{(A) \text{ Calibrador} - (A) \text{ Blanco Calibrador}}$$

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

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

Bilirrubina Total en adultos	Hasta 1,10 mg/dL	≅ 18,81 µmol/L
Bilirrubina Total en recién nacidos	<12 mg/dL	≅ <205,2 µmol/L
Bilirrubina Directa	Hasta 0,25 mg/dL	≅ 4,27 µmol/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de (T) 0,00526 mg/dL (D) 0,07 mg/dL hasta el límite de linealidad de 18 mg/dL (T) y 20 mg/dL (D). Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Bilirrubina T	Intraserie (n= 20)	
Media (mg/dL)	1,53	5,06
SD	0,03	0,05
CV (%)	1,73	1,01

Interserie (n= 20)	
Media	5,02
SD	0,11
CV	2,18

Bilirrubina D	Intraserie (n= 20)	
Media (mg/dL)	0,96	2,48
SD	0,024	0,051
CV (%)	2,52	2,06

Interserie (n= 20)	
Media	2,50
SD	0,035
CV	1,41

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,05074 A (T).
1 mg/dL = 0,06856 A (D).

Exactitud: Los reactivos SPINREACT no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales.

Los resultados obtenidos con 50 muestras para Bilirrubina D fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r²): 0,96

Ecuación de la recta de regresión: y=0,71177x - 0,05267

Los resultados obtenidos con 50 muestras para Bilirrubina T fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r²): 0,991

Ecuación de la recta de regresión: y=0,82743x - 0,03982

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

La presencia de hemólisis disminuye el valor de bilirrubina^{1,2}. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren con la determinación de bilirrubina^{3,4}.

NOTAS

- Para la determinación de bilirrubina en neonatos, pipetear 50 µL de muestra. Multiplicar el resultado obtenido por 2.
- Uso de pipeta desechable para la dispensación.
- Sólo para ser utilizado en la bilirrubina total.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Kaplan A et al. Bilirubin. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1238-1241. 436 and 650.
- Malloy H T. et al. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J. Biol Chem 1937; 112, 2; 481-491.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 1001044

Cont.	R 1 (D):	1 x 150 mL
	R 2 (T):	1 x 150 mL
	R 3:	1 x 10 mL



Determinación de creatinina sérica

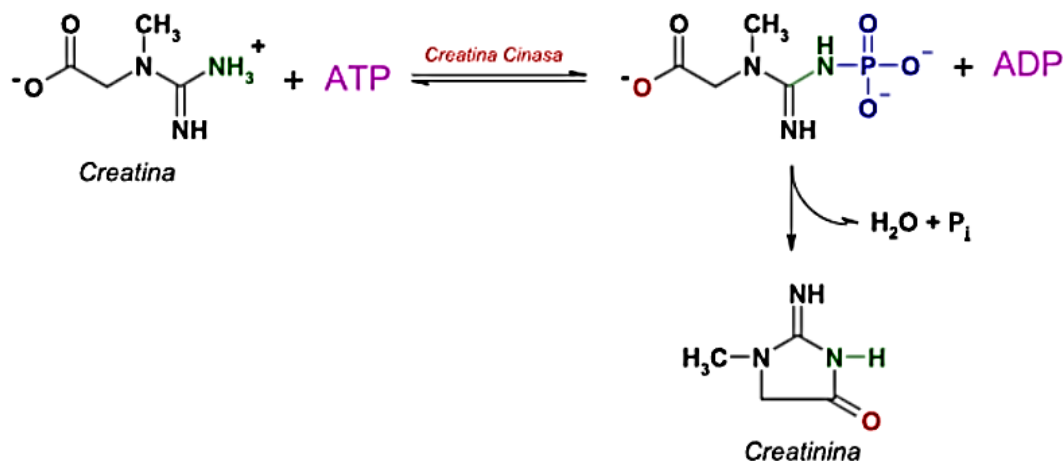
Objetivo:

- Determinar cuantitativamente la concentración de creatinina
- Interpretar los resultados obtenidos relacionándolos con las patologías más comunes de acuerdo a los valores de referencia

Generalidades:

La creatinina se forma por la deshidratación de la creatina, en el transcurso del metabolismo energético muscular, a un ritmo constante.

La creatina se forma por tres aminoácidos: glicina, arginina (aminoácidos no esenciales) y metionina (aa esencial).



La producción de creatinina endógena permanece constante mientras la masa muscular se mantenga de igual forma. Toda la creatinina que se produce es filtrada por el glomérulo y se elimina disuelta en la orina. Estas características permiten utilizarla como una medida del ritmo de la filtración glomerular.

La creatina es el nutriente para los músculos, fuente directa para ingresar ATP a partir del ADP. El 2% de la creatina se forma en creatinina. La creatina no proviene del músculo. La creatinina se excreta por orina.

Significado clínico

La creatinina no proviene del músculo se produce en riñón, así como también, en hígado y se envía al músculo.

La creatinina se degrada en el músculo por la degradación de la fosfocreatina en cantidad proporcional a la masa y función muscular, la creatinina es eliminada del organismo por vía renal, siendo retirada del plasma por filtración glomerular, su medición es útil en el diagnóstico de diversas nefropatías, y su control permanente es de gran utilidad en pacientes que ameriten diálisis.



Métodos diagnósticos de la función renal

Medición de creatinina sérica y urinaria; USG renal y urografía excretora

Fórmula de depuración de creatinina en 24 horas (Swartz)

$$\frac{\text{Cr urinaria}}{\text{Cr sérica}} \times \frac{\text{Volumen urinario}}{1440} \times 1.73 = \text{SC}$$

Materiales, reactivos y equipo

Materiales

- Una Jeringa de 5 mL o tubo Vacutainer rojo o verde
- Una Ligadura
- Algodón
- Tres celdas de 1cm paso de luz
- Seis tubos de ensaye
- En caso de usar tubo Vacutainer aguja y camisa de extracción
- Una Gradilla

Equipo

- Espectrofotómetro
- Centrifuga
- Balanza de dos platos
- Pipeta automática 1000 µL
- Pipeta automática 200 µL

Reactivos

- Suero separado lo antes posible de los hematíes o plasma
- Estuche de Creatinina (Spinreact)
- Alcohol al 70%
- Heparina

Servicios. Electricidad y agua.

Técnica

- Ver anexo de la práctica

Resultados

Interpretar los resultados obtenidos.

Discutir la correlación clínica del aumento y disminución creatinina sérica.



Cuestionario

1. ¿Qué diferencia hay de creatina a creatinina?
2. Mencione las funciones de la creatina.
3. La metionina al ser un aminoácido esencial no lo sintetiza el humano, mencione las fuentes de alimentación donde lo podemos encontrar.
4. ¿Qué métodos diagnósticos se utilizan para el diagnóstico de insuficiencia renal aguda?
5. ¿Qué enfermedades NO RENALES condicionan insuficiencia renal?

Referencias

Baynes, J. W., y Dominiczak, M. H. (2019). *Bioquímica médica*. (5a. Ed.) Elsevier.

Hall, J. E. (2021). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*. (14a Ed.). Elsevier Health Sciences.

Harrison, T. R., Kasper, D. L., Hauser, S., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Longo, D. L., y Loscalzo, J. (2018). *Harrison: principios de medicina interna*. (20a. Ed.). McGraw-Hill.

Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de la Enfermedad Renal Crónica. Guía de Evidencias y Recomendaciones: Guía de Práctica Clínica. México, CENETEC;(2019). Disponible en: <https://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/335GER.pdf>.

Restrepo, V., Buitrago, C., Torres, J., Serna, J. (2020). *Nefrología Básica*. (2a. Ed.). La Patria.



Anexo



CE CREATININE -J
Creatinina
Jaffé. Colorimétrico - cinético

**Determinación cuantitativa de creatinina
IVD**

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El ensayo de la creatinina esta basado en la reacción de la creatinina con el picrato alcalino descrito por Jaffé. La creatinina reacciona con el picrato alcalino formando un complejo rojizo. El intervalo de tiempo escogido para las lecturas permite eliminar gran parte de las interferencias conocidas del método. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de creatinina en la muestra ensayada¹.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La creatinina es el resultado de la degradación de la creatina, componente de los músculos y puede ser transformada en ATP, fuente de energía para las células. La producción de creatinina depende de la modificación de la masa muscular. Varía poco y los niveles suelen ser muy estables. Se elimina a través del riñón. En una insuficiencia renal progresiva hay una retención en sangre de urea, creatinina y ácido úrico. Niveles altos de creatinina son indicativos de patología renal^{1,4,5}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1	Ácido picrico	17,5 mmol/L
Reactivo Picrico		
R 2	Hidróxido sódico	0,29 mol/L
Reactivo Alcalinizante		
CREATININE CAL	Patrón primario acuoso de Creatinina	2 mg/dL

PRECAUCIONES

Hidróxido sódico: Irritante (Xi): R36/38: Irrita ojos y la piel. S26: En caso de contacto con los ojos, lavar de inmediato con abundante agua y acudir al médico. S37/39: Usar guantes adecuados y proteger cara y ojos. S45: En caso de accidente o malestar, acudir inmediatamente al médico.

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT): Mezclar volúmenes iguales de R 1 Reactivo Picrico y de R 2 Reactivo Alcalinizante.
Estabilidad del reactivo de trabajo: 10 días a 15-25°C.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

CREATININE CAL

Una vez abierto, es estable 1 mes si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 492 nm $\geq 1,80$.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 492 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

- Suero o plasma heparinizado¹.
- Estabilidad de la creatinina: al menos 24 horas a 2-8°C.
- Orina¹: Diluir la muestra al 1/50 con agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 50 (factor de dilución)
- Estabilidad de la creatinina: 7 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 492 nm (490-510)
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura: 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente al blanco de reactivo.

3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón ^(Nota1,2) (µL)	--	100	--
Muestra (µL)	--	--	100

- Mezclar y poner en marcha el cronómetro.
- Leer la absorbancia (A₁) al cabo de 30 segundos y al cabo de 90 segundos (A₂) de la adición de la muestra.
- Calcular: $\Delta A = A_2 - A_1$.

CÁLCULOS

$$\frac{\Delta A \text{ Muestra}}{\Delta A \text{ Patrón}} \times 2 \text{ (Conc. Patrón)} = \text{mg/dL de creatinina en la muestra}$$

Factor de conversión: mg/dL x 88,4 = µmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINCONTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

Suero o plasma:
Hombres 0,7 - 1,4 mg/dL \boxtimes 61,8 - 123,7 µmol/L
Mujeres 0,6 - 1,1 mg/dL \boxtimes 53,0 - 97,2 µmol/L
Orina: 15-25 mg/Kg/24 h
Hombres 10 - 20 mg/Kg/24 h \boxtimes 88 - 177 µmol/Kg/24 h
Mujeres 8 - 18 mg/Kg/24 h \boxtimes 71 - 177 µmol/Kg/24 h
Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,09 mg/dL hasta el límite de linealidad de 15 mg/dL.

Si la concentración es superior al límite de linealidad, diluir la muestra 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Media (mg/dL)	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
	1,06	3,58	1,03	3,31
SD	0,22	0,06	0,04	0,06
CV (%)	2,07	1,54	3,97	1,75

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = ΔA 0,03 A/min . mg/dL.

Exactitud: Los reactivos de SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,986

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0,975x + 0,047$

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Hemoglobina (1 g/L), Bilirrubina (55 mg/dL), interfiere¹.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la creatinina^{2,3}.

NOTAS

- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Murray R.L., Creatinine. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1261-1268 and 418.
- Young D.S. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young D.S. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1989.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 1001111 Cont. 2 x 150 mL
Ref: 1001113 Cont. 4 x 150 mL



IMPORTADORES EXCLUSIVOS: LAB CENTER DE MEXICO S.A. DE C.V.
Colina de las Termas #35 Fracc. Boulevardes Naucalpan Edo. de México C.P. 53140
TEL: 01 (55) 531604772 LADA SIN COSTO 01 800 500 SPIN (7746)
www.spinreact.com.mx info@spinreact.com.mx



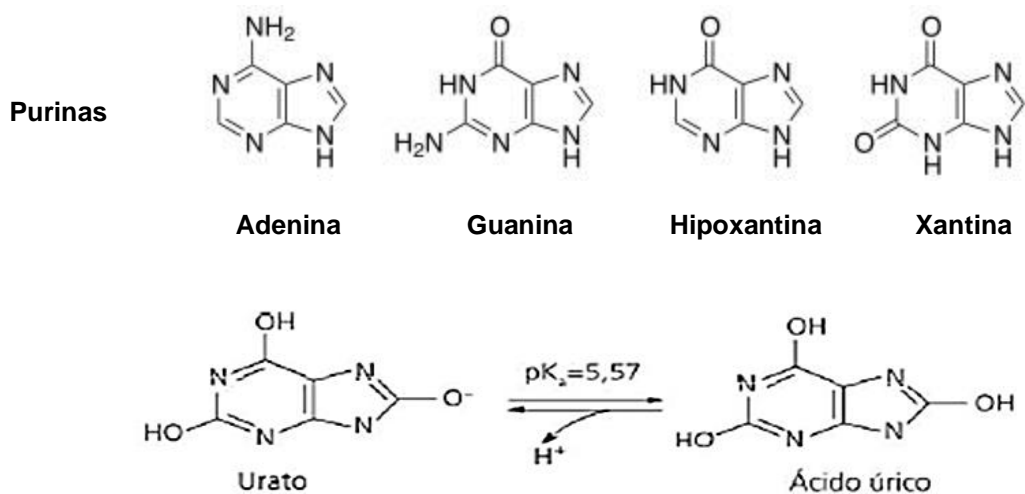
Determinación de ácido úrico sérico

Objetivo:

- Determinar cuantitativamente la concentración de ácido úrico sérico.
- Interpretar los resultados relacionándolos con las patologías más comunes, de acuerdo con los valores de referencia.

Generalidades.

El ácido úrico es el principal producto del catabolismo de las purinas en los humanos, a pH 7.4, el 98% está ionizado y por tanto circula como urato monosódico. Esta sal es poco soluble y el líquido extracelular se satura a concentraciones de urato por encima del límite superior del intervalo de referencia. Por tanto, el urato monosódico tiende a cristalizarse en sujetos con hiperuricemia. La manifestación clínica más evidente de este proceso es la gota.



Purinas y equilibrio entre el ácido úrico y el urato.

Significado Clínico

Las principales causas de hiperuricemia son: la gota primaria, producción metabólica de las purinas elevada o por fallas en la eliminación renal. Y la gota secundaria que puede ser causada por una enfermedad renal o la administración de medicamentos (diuréticos, quimioterapia). La hiperuricemia puede también ser atribuida a un defecto de una de las enzimas implicadas en el metabolismo de purinas.

El aumento en la producción de urato puede ser una consecuencia secundaria de otros trastornos: 1. Elevado recambio del ADN, tal y como ocurre en situaciones de gran proliferación celular, como algunos tumores y síndromes mieloproliferativos.

También cuando hay una gran destrucción celular, como en los tratamientos de quimioterapia, se produce un excesivo catabolismo de las purinas y aumenta la producción de urato.

La ingesta de alcohol aumenta la degradación del ATP a urato y, además, se acumulan ácidos orgánicos que interfieren en la excreción de urato ya que compiten con éste por el transportador renal.



Un exceso de purinas en la dieta o de vitamina B12 provoca también un aumento de la producción de urato.

Se considera hipouricemia o hipouricosuria la eliminación diaria de urato inferior a 1.5 mmol. En la mayoría de los casos, este descenso de la eliminación de urato es secundaria a otros trastornos, como:

- 1. Insuficiencia renal.*
- 2. Ingestión de algunos fármacos que provocan la retención de urato: salicilatos, diuréticos tiazídicos, furosemida o laxantes.*
- 3. Deshidratación o diabetes insípida ya que la hormona antidiurética (ADH) aumenta la eliminación de urato en orina.*
- 4. Cetoácidos diabética, acidosis láctica u otras acidemias orgánicas que dificultan la eliminación de uratos ya que interfieren en su excreción tubular.*

Existe elevación del ácido úrico (hiperuricemia) en casos de:

- Gota (la cantidad no es directamente proporcional a la gravedad de la enfermedad).*
- Problemas renales e insuficiencia renal.*
- Alcoholismo.*
- Deshidratación (hiperazoemia prerrenal).*
- Intoxicación por plomo.*
- Leucemia.*
- Linfoma.*
- Inanición.*
- Acidosis metabólica.*
- Toxemia del embarazo.*
- Mononucleosis infecciosa.*
- Hiperlipidemia.*
- Hipoparatiroidismo.*
- Anemia hemolítica.*
- Después de la destrucción celular extensa, como después de la radioterapia y quimioterapia.*

El ácido úrico disminuye en casos de:

- Síndrome de Fanconi.*
- Enfermedad de Wilson.*
- Intoxicación por metales pesados.*
- Algunos cánceres (enfermedad de Hodgkin, mieloma múltiple).*
- Xantinuria (deficiencia de oxidasa de xantina).*

Materiales, reactivos y equipo

Materiales

- Una Jeringa de 5 mL o tubo Vacutainer rojo o morado*
- Una Ligadura*
- Algodón*
- Tres celdas de 1cm paso de luz*
- Seis tubos de ensaye*
- En caso de usar tubo Vacutainer aguja y camisa de extracción*
- Una Gradilla*

Reactivos

- Suero separado lo antes posible de los hematíes o plasma*
- Estuche de Ácido úrico (Spinreact)*
- Alcohol al 70%*
- EDTA al 1%*



Equipo

- Espectrofotómetro
- Centrífuga
- Balanza de dos platos
- Pipeta automática 1000 μL
- Pipeta automática 200 μL

Servicios. Electricidad y agua.

Técnica

- Ver anexo de la práctica

Resultados

Interpretar los resultados obtenidos.

Discutir la correlación clínica del aumento y disminución de ácido úrico sérico, como la gota.

Cuestionario.

1. ¿Qué pruebas de laboratorio complementan el diagnóstico de gota?
2. ¿Qué es un tofo? O ¿Cómo se llaman los depósitos de cristales de urato monosódico que se producen en el líquido sinovial de las articulaciones y sobre los tejidos que las rodean y causan la aparición de artritis?
3. Explica la fisiopatología del ácido úrico en las siguientes enfermedades:
 - 3.1 Gota primaria
 - 3.2 Gota secundaria
 - 3.3 Insuficiencia renal
4. La gota se trata con antiinflamatorios y Colchicina. ¿Qué inhibe la proliferación y la migración leucocitarias?

Referencias

Baynes, J. W., y Dominiczak, M. H. (2019). *Bioquímica médica*. (5a. Ed.) Elsevier.

González-Hernández, A. (2019). *Principios de bioquímica clínica y patología molecular*. (3a. Ed.). Elsevier Health Sciences.

Hall, J. E. (2021). Guyton y Hall. *Tratado de fisiología médica*. (14a. Ed.). Elsevier Health Sciences.

Harrison, T. R., Kasper, D. L., Hauser, S., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Longo, D. L., y Loscalzo, J. (2018). *Harrison: principios de medicina interna*. (20a. Ed.). McGraw-Hill.

Olay-Fuentes, G., Díaz-Piedra, P., Hernández-Gómez, R., Cervantes-Villagrana, R. D., Presno-Bernal, J. M., y Alcántara-Gómez, L. E. (2013). Determinación de intervalos de referencia para química clínica en población mexicana. *Revista Latinoamer Patol Clin*, 60(1), 43-51.

Secretaría de Salud. (s.f.). *Guía de Práctica Clínica. Prevención, diagnóstico, tratamiento y referencia oportuna de hiperuricemia y gota* [Archivo PDF]. <http://www.cenetec-difusion.com/CMGPC/SS-216-09/RR.pdf>



Anexo



Ácido úrico

Uricasa -POD. Enzimático colorimétrico

Determinación cuantitativa de ácido úrico

IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

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



La intensidad de quinonaimina roja formada es proporcional a la concentración de ácido úrico presente en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

El ácido úrico y sus sales son el producto final del metabolismo de las purinas. En una insuficiencia renal progresiva hay una retención en sangre de urea, creatinina y ácido úrico.

Niveles altos de ácido úrico son indicativos de patología renal y generalmente se asocia con la gota^{1,5,6}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1	Fosfatos pH 7,4	50 mmol/L
Tampón	2-4 Diclorofenol Sulfonato (DCPS)	4 mmol/L
R 2	Uricasa	60 U/L
Enzimas	Peroxidasa (POD)	660 U/L
	Ascorbato oxidasa	200 U/L
	4 - Aminofenazona (4-AF)	1 mmol/L
URIC ACID CAL	Patrón primario acuoso de Ácido úrico 6 mg/dL	

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT): Disolver (→) el contenido de un vial de R 2 Enzimas en un frasco de R 1 Tampón. Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido. Estabilidad: 1 mes en nevera (2-8°C) o 10 días a temperatura ambiente.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

URIC ACID CAL

Una vez abierto, es estable 1 mes si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 520 nm ≥ 0,16.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 520 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

- Suero o plasma¹: Estabilidad 3-5 días a 2-8°C y 6 meses a -20°C.
- Orina (24 h)¹: Estabilidad 3 días a temperatura ambiente a pH > 8. Diluir la muestra al 1/50 en agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 50 (factor de dilución); Si la muestra es turbia, calentarla a 60°C 10 min para disolver los precipitados de urato y ácido úrico. No refrigerar.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
 - Longitud de onda: 520 nm (490-550)
 - Cubeta: 1 cm paso de luz
 - Temperatura: 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón (Nota1-2) (µL)	-	25	-
Muestra (µL)	-	-	25

- Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C ó 10 min. 15-25°C.
- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

CÁLCULOS

Suero o plasma

$$\frac{(A) \text{Muestra}}{(A) \text{Patrón}} \times 6 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de ácido úrico en la muestra}$$

Orina 24 h

$$\frac{(A) \text{Muestra}}{(A) \text{Patrón}} \times 6 \times \text{vol. (dL) orina/24h} = \text{mg/24 h de ácido úrico}$$

(A) Patrón

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

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA⁵

Suero o plasma:

Mujeres 2,5 - 6,8 mg/dL ≅ 149 - 405 µmol/L

Hombres 3,6 - 7,7 mg/dL ≅ 214 - 458 µmol/L

Orina: 250 - 750 mg/24 h ≅ 1,49 - 4,5 mmol/24 h

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,03 mg/dL hasta el límite de linealidad de 25 mg/dL.

Si la concentración es superior al límite de linealidad, diluir la muestra 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (mg/L)	4,74	11,4	4,72	11,2
SD	0,03	0,06	0,07	0,15
CV (%)	0,63	0,56	1,58	1,36

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,0347 A.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,99.

Ecuación de la recta de regresión: y=1,005x + 0,0005.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No se han observado interferencias con bilirrubina hasta 170 µmol/L, hemoglobina hasta 130 mg/dL y ácido ascórbico hasta 570 µmol/L².

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del ácido úrico^{3,4}.

NOTAS

- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Schultz A. Uric acid. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1261-1266 and 418.
- Fossati P et al. Clin Chem 1980;26:227-231.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 1001010	Cont.	10 x 20 mL
Ref: 1001011		10 x 50 mL
Ref: 1001012		4 x 125 mL



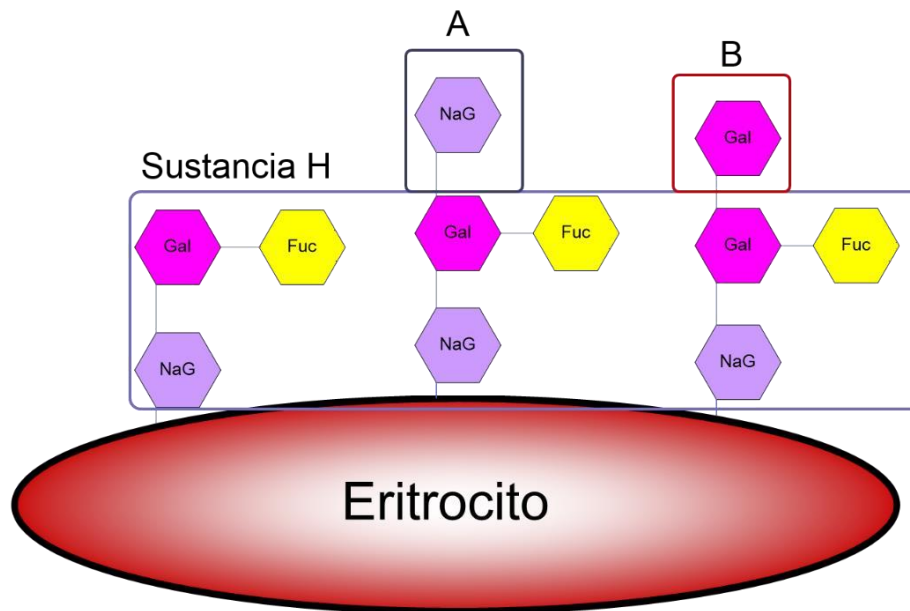
Determinación de grupos sanguíneos.

Objetivo

- Realizar la tipificación sanguínea para poder identificar el tipo y grupos sanguíneos.
- Interpretar el resultado.

Generalidades

Las membranas de los hematíes contienen diversos antígenos de grupo sanguíneo, de los que el sistema ABO es el mejor conocido y el más estudiado. Los antígenos de este grupo tienen un precursor común llamado sustancia H, y un individuo puede tener sangre de tipo A, tipo B, tipo AB o tipo O.



Estructura Bioquímica de los Grupos Sanguíneos ABO; **NaG**= N-Acetil-glucosamina, **Gal**=Galactosa y **Fuc**= Fucosa

Las personas con células de tipo A desarrollan anticuerpos naturales en su plasma que se dirigen contra los hematíes de tipo B y tipo AB (y los **aglutina**), mientras que las que tienen hematíes de tipo B desarrollan anticuerpos contra el tipo A y AB.

Las personas con sangre de tipo AB no tienen anticuerpos ni A ni B y se llaman **receptores universales**, porque pueden recibir células de cualquier tipo de sangre. Las personas con sangre de tipo O solo tienen sustancia H en los hematíes y son **donantes universales**, porque sus hematíes no se aglutinan con anticuerpos A ni B; pueden aceptar sangre solo de un donante de tipo O.



Grupo Sanguíneo	Antígeno del Eritrocito	Anticuerpo del Plasma	Compatible con
A	A	B	A y 0
B	B	A	B y 0
0	0	AB	0
AB	A y B	Ninguno	A, B, AB y 0

Factor Rh (antígeno D)

Es un gen que se conoce como factor Rh. Se trata de una proteína integral de la membrana eritrocitaria y los individuos que carecen de este antígeno son designados Rh negativos. Si una mujer Rh negativa embarazada es transfundida con sangre Rh positiva, su sangre mostraría anticuerpos anti-D. Como consecuencia, si su hijo es Rh positivo, estos anticuerpos provocan la lisis de los eritrocitos del niño, trastorno conocido como enfermedad hemolítica del recién nacido.

Material, reactivos y equipo

Material

- Torundas con alcohol
- Dos Lancetas
- Un Portaobjetos o placa socavada excavada de porcelana
- Cuatro Aplicadores de madera
-

Reactivos

- Antisueros para tipificación AB0 y Rh
 - Anti A
 - Anti B
 - Anti D
 - Anti A,B

Equipo

- Microscopio óptico o Estereoscopio.

Servicios. Electricidad y agua.

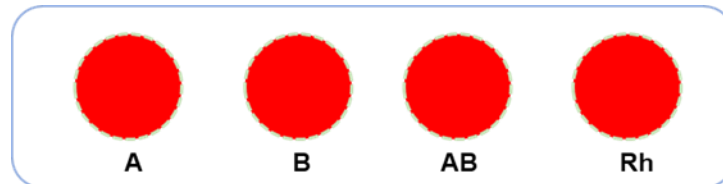


Técnica.

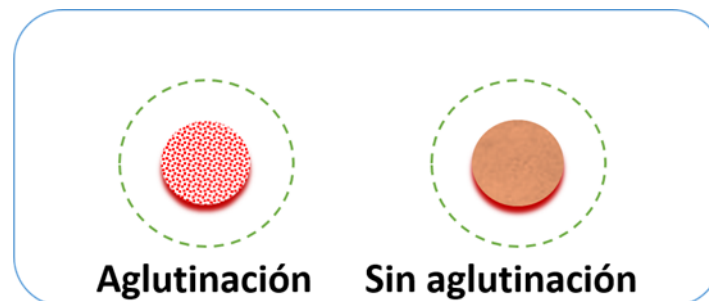
1. Realizar cuatro círculos en un portaobjetos utilizando el lápiz grueso, y rotular cada círculo por la parte externa, con las siguientes leyendas A, B, AB y Rh.



- a. Podremos utilizar la placa de porcelana y sólo será necesario escribir en el borde las anteriores leyendas.
2. A las personas seleccionadas o asignadas, realizar con una torunda la limpieza de la yema del dedo anular, puede ser cualquier otro dedo pero es recomendable éste.
 3. Con la lanceta realizar una punción en la zona desinfectada.
 4. Colocar una gota de sangre en cada uno de los círculos marcados o pocillos de la placa.



5. Agregar a cada muestra una gota del antisuero correspondiente, A, B, AB y D.
6. Utilizando los aplicadores, mezclar el antisuero con la muestra de sangre, utilizar un extremo del aplicador para cada muestra, no utilizar un mismo extremo del aplicador más de una vez.
7. Leer los resultados transcurridos por lo menos 45 segundos, no antes, indicando donde hubo aglutinación:





8. Para observar mejor la aglutinación se podrá utilizar el microscopio, en caso de haber utilizado portaobjetos, enfocando a 10x y 40x. En caso de haber utilizado la placa de porcelana utilizar el estereoscopio.

	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-D
Grupo A				
Grupo B				
Grupo AB				
Grupo 0				
Rh positivo				
Rh negativo				

Resultados

Interpretar los resultados obtenidos

Cuestionario

1. ¿Qué es un antígeno y qué es un anticuerpo?
2. ¿Estructuralmente en qué se diferencian los antígenos en el sistema ABO?
3. ¿Mencione en qué consiste la tipificación?
4. ¿Cuál sería el resultado obtenido en la tipificación para una sangre 0 Rh negativa?
5. Realice una tabla donde explique el genotipo del sistema ABO basado en la herencia Mendeliana
6. Explique la importancia de la prueba directa e inversa

Referencias

- Baynes, J. W. (2011). *Bioquímica Médica*. Elsevier.
- García-Arbeláez, C. A. (2009). Sistema de grupo sanguíneo ABO. *Medicina y Laboratorio*, 15(7-8), 329-347.
- Harris, J. B. (1976). *Grupos sanguíneos y Técnicas para su identificación*. Manual moderno.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012. (2012, 26 de octubre). *Norma oficial mexicana NOM-253-SSA1-2012, para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos*. Diario Oficial de la Federación. <http://www.cnts.salud.gob.mx/descargas/NOM-253-SSA1-2012.pdf>



Determinación de pruebas cruzadas

Objetivo.

- *El alumno realizará pruebas cruzadas comprobando compatibilidades entre grupos sanguíneos y determinando su importancia dentro de la medicina transfusional.*

Generalidades

Las pruebas cruzadas, son, un procedimiento utilizado en medicina transfusional para determinar y excluir la incompatibilidad sanguínea y serológica entre receptor y donador, previniendo así una reacción hemolítica que ponga en riesgo la integridad y la vida del paciente.

Con las pruebas cruzadas, logramos detectar anticuerpos (Ac) y antígenos (Ag) en el laboratorio y estos puedan ser estudiados in vitro; ayudándonos a prevenir la transfusión de sangre incompatible, dando al paciente la máxima seguridad y beneficio. Las pruebas cruzadas normalmente se llevan a cabo en cuatro fases:

- 1.- *Lectura rápida*
- 2.- *Lectura de 37°*
- 3.- *Lectura 37°/Coombs*
- 4.- *Validación con eritrocitos sensibilizados*

La prueba estándar que se realiza en el laboratorio de enseñanza es la lectura rápida, a temperatura ambiente, que se divide en dos:

- a) **Prueba mayor:** *Esta prueba de compatibilidad consiste en investigar en el suero del receptor (paciente), los posibles Ac frente a Ag tanto ABO como el resto de Ag eritrocitarios de una unidad de concentrado eritrocitario. Para ello, se observa la aglutinación eritrocitaria en la mezcla in vitro de suero paciente y hematíes del donante (paquete de hematíes), se busca estabilidad eritrocitaria o hemólisis combinando a temperatura ambiente eritrocitos. Permite demostrar la presencia o ausencia de anticuerpos regulares o irregulares en el suero/plasma del receptor contra antígenos presentes, en los eritrocitos del donante.*
- b) **Prueba menor:** *Permite demostrar la presencia o ausencia de anticuerpos regulares e irregulares en el suero/plasma del donante contra antígenos presentes en los eritrocitos del paciente. Se realiza cuando se le administra al receptor cualquier hemoderivado que contenga plasma, (Plasma fresco congelado o Concentrado plaquetario) el objetivo de este ensayo, es detectar anticuerpos en el plasma del donante que puedan afectar los hematíes del receptor.*

Las pruebas que realizará el banco de sangre son:

- 1) *Grupo sanguíneo*
- 2) *Escrutinio de anticuerpos irregulares (búsqueda de anticuerpos antieritrocitarios producidos por una sensibilización previa).*
- 3) *Pruebas cruzadas propiamente dichas (mezcla de la sangre del paciente con la sangre que se va a transfundir para ver si hay alguna incompatibilidad).*
- 4) *Estudios inmunohematológicos: Son estudios especiales que se realizan cuando se ha detectado alguna incompatibilidad inesperada. El objetivo de estos es buscar la causa. Una vez conocida la misma, se podría buscar sangre compatible. La situación más habitual en los estudios inmunohematológicos es identificar un anticuerpo antieritrocitario (anticuerpo irregular) que se haya detectado en las pruebas iniciales.*



Significado clínico.

La transfusión sanguínea es un método terapéutico, que nunca ha sido tan segura como en la actualidad, pero pueden existir efectos indeseables. Por ello se debe valorar la relación riesgo-beneficio antes de su prescripción.

Antes de realizar cada procedimiento es muy importante contar con un excelente control de calidad, el cual nos permitirá verificar todos los procesos y etapas que influirán en la detección de los anticuerpos.

Todo paciente tiene derecho a conocer los riesgos transfusionales y puede rechazarla, la ley exige que el paciente esté informado de estos riesgos. Además del informe verbal, se debe entregar un formulario que recoge dichos inconvenientes para que quede constancia de que el paciente ha sido informado al respecto.

	Grupo A	Grupo B	Grupo AB	Grupo O
Eritrocito				
Anticuerpos en plasma sanguíneo			Ninguno	
Antígenos en los eritrocitos				Ninguno



Compatibilidad del tipo de sangre

Tipo de sangre	Da	Recibe
A+	A+, AB+	A+, A-, O+, O-
O+	O+, A+, B+, AB+	O+, O-
B+	B+, AB+	B+, B-, O+, O-
AB+	AB+	Todos
A-	A+, A-, AB+, AB-	A-, O-
O-	Todos	O-
B-	B+, B-, AB+, AB-	B-, O-
AB-	AB+, AB-	AB-, A-, B-, O-

Material, reactivos y equipo

Material

- Torundas con alcohol
- Dos Lancetas
- Una Portaobjetos o placa socavada excavada de porcelana
- Cuatro Aplicadores de madera

Reactivos

Equipo

- Microscopio óptico o Estereoscopio.

Servicios. Electricidad y agua.

- Antisueros para tipificación AB0 y Rh

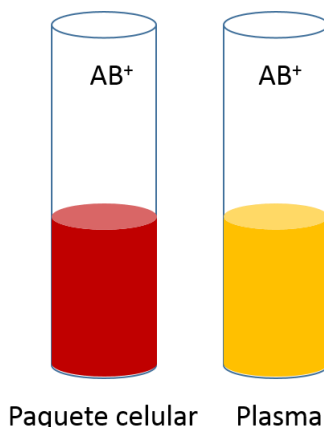
- Anti A
- Anti B
- Anti D
- Anti A,B



Técnica

Tipificación

1. Tipificar al receptor y al donador según la práctica de **Grupos Sanguíneos**.
2. Una vez seleccionados extraer un tubo de sangre anticoagulada con EDTA a cada donador.
3. Rotular el tubo con el tipo de sangre que corresponde, no olvidar incluir el Rh.
4. Centrifugar los tubos a 4000 rpm por 5 minutos.
5. Separar el plasma de cada muestra a su correspondiente tubo, rotulado con el grupo sanguíneo, utilizando una pipeta Pasteur para cada muestra.



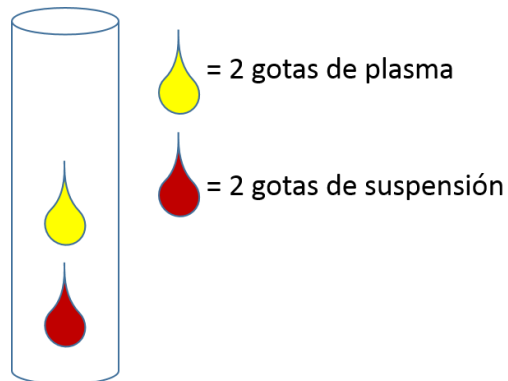
Lavados

1. Al tubo con paquete celular adicionar 4 mL de solución salina 0.85 %, resuspender con cuidado cubriendo el tubo con Parafilm® y centrifugar a 4000 rpm durante 5 minutos.
2. Desechar el sobrenadante, que corresponde a solución salina con anticuerpos y demás proteínas plasmáticas, utilizando su correspondiente pipeta Pasteur.
3. Repetir los pasos 1 y 2 por tres ocasiones más.
4. Tras el último lavado prepara en otro tubo, rotulado con el grupo sanguíneo, una suspensión de eritrocitos al 5%.
5. Colocar a un lado del tubo que contiene el plasma correspondiente a la muestra de sangre.

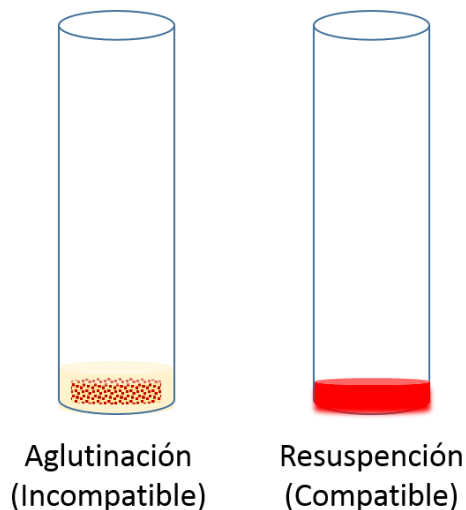


Pruebas Cruzadas

1. *Seleccionar los tubos (plasma y suspensión de eritrocitos) de la sangre que funcionará como donador y receptor*
2. *Rotular dos tubos de ensayo con las siglas:*
 - a. **PM** = Prueba Mayor
 - b. **Pm** = Prueba menor.
3. *Para la **Prueba Mayor (PM)** agregar, con su correspondiente pipeta Pasteur, dos gotas de la suspensión de eritrocitos del donador al tubo y posteriormente dos gotas del plasma del receptor.*
4. *Para la **Prueba menor (Pm)** agregar, con su correspondiente pipeta Pasteur, dos gotas de la suspensión de plasma del donador al tubo y posteriormente dos gotas de la suspensión de eritrocitos del receptor.*



5. *Centrifugar ambos tubos a 4000 rpm durante 2 minutos.*
6. *Posteriormente agitar suavemente y observar si existe resuspensión o aglutinación.*
 - a. Una **resuspensión** se reporta como **compatible**.
 - b. Una **aglutinación** se reporta como **incompatible**.



Resultados

Interpretación de los resultados obtenidos

Cuestionario

- 1.- Explique la importancia de conocer los hemotipos para la medicina transfusional.
- 2.- ¿Qué sucede en caso de que las pruebas sean incompatibles?
- 3.- ¿Indicaría una transfusión sanguínea sin conocer el grupo sanguíneo del paciente y su Rh?
- 4.- Investigue cuales son las reacciones transfusionales más comunes.
- 5.- Si un paciente a su cargo presenta reacción transfusional, ¿cuáles son sus acciones inmediatas?

Referencias

- Feduchi, C. E. (2021). *Bioquímica. Conceptos esenciales*. (3ra Ed.). Médica Panamericana.
- Murray, R. K., Bender, D. A., Botham, K. M. Kennelly, P. J. y Weil, P. A. (2019). *Harper Bioquímica Ilustrada*. (31a. Ed.). McGraw-Hill.
- Pagana, K. (2015). *Laboratorio clínico: indicaciones e interpretación de resultados*. El Manual Moderno.



Examen general de orina

Objetivos:

- Realizar el análisis Físico-químico y microscópico de una muestra de orina.
- Interpretar los resultados obtenidos con las patologías más comunes, de acuerdo a los valores de referencia.

Marco teórico

La orina es un líquido muy complejo formado por 95% de agua y 5% de sólidos; constituye el producto final realizado por millones de células del sistema renal y urinario del metabolismo y tiene un gasto promedio de 1 a 1.5 Litros de orina por día, que depende de la ingestión de líquidos. A través de la orina se excreta una gran variedad de productos metabólicos de desecho; se forma en los riñones, que, junto con la piel y el aparato respiratorio, constituyen los órganos principales de excreción del organismo.

Significado clínico.

El examen general de orina es una prueba muy importante en los individuos que ingresan al hospital y forma parte del estudio integral del paciente. Es uno de los indicadores más útiles de salud o enfermedad. Este análisis tiene dos propósitos. El primero es detectar anomalías en las que el riñón funciona normalmente pero excreta cantidades anormales de productos metabólicos específicos para determinada enfermedad. El segundo propósito es el detectar alteraciones que modifican el funcionamiento de los riñones o del aparato urinario. Los riñones enfermos no funcionan normalmente para regular el volumen y la composición de los líquidos del organismo ni para mantener la homeostasia. El examen general de orina es muy útil para diagnosticar nefrosis (degeneración del riñón sin inflamación); nefritis (inflamación del riñón), pielonefritis (infección bacteriana) o glomerulonefritis (sin infección) y cistitis (inflamación vesical).

El examen general de orina es un estudio cuidadoso y sistemático de las propiedades físicas, químicas y de las estructuras microscópicas presentes en este fluido, involucra:

- La observación macroscópica de las características del espécimen biológico.
- La cuantificación de diversas sustancias químicas que se excretan como productos de desecho, para el mantenimiento de la homeostasis y en diferentes condiciones fisiológicas y patológicas.
- Un análisis microscópico que, para rendir utilidad al diagnóstico, requiere una actividad mental inductiva por parte del analista, la cual se basa en el conocimiento de los elementos que observa, los factores que afectan sus características y el significado clínico-patológico de los mismos.



Interferencias.

1. Si la tira reactiva se mantiene dentro de la muestra demasiado tiempo, las sustancias químicas impregnadas en la tira tienden a disolverse, con lo que se obtendrán lecturas y cifras poco precisas.
2. Si los reactivos en las tiras se mezclan, las lecturas también serán poco precisas. Para evitar esto, sacuda la tira y elimine el exceso de orina después de haberla sumergido en la muestra.
3. El momento en que se realiza la prueba es muy importante. Si no se programa correctamente, los cambios de la coloración suelen producir resultados falsos o inválidos.
4. Si no se usa, el recipiente de las tiras debe guardarse bien tapado y en un ambiente seco, ya que si se humedece con el aire antes de ser utilizado, no se obtendrán resultados precisos. Cuando se incluye algún material secante en el frasco de las tiras, debe dejarse en el recipiente.
5. Ciertos medicamentos dan resultados falsos positivos.
6. Use orina reciente (dentro de la primera hora después de la recolección o bien una muestra refrigerada) para evitar la posibilidad de resultados inválidos como los siguientes:
 - a. La glucosa disminuye
 - b. Las cetonas se disipan
 - c. El color se oscurece
 - d. El sedimento urinario se deteriora
 - e. Las bacterias (si existen) se multiplican
 - f. El pH se alcaliniza
 - g. La bilirrubina y el urobilinógeno se oxidan (si se exponen a la luz durante un periodo prolongado).

Material, reactivos y equipo

Material

- Un frasco de toma de muestra
- Dos tubos de ensaye de 13 x 100
- Papel absorbente
- Un portaobjetos
- Un cubreobjetos
- Una pipeta Pasteur con bulbo

Reactivos

- Orina
- Tiras reactivas para orina (spinreact)

Equipo

- Balanza de dos platos
- Centrifuga
- Microscopio óptico

Servicios. Electricidad y agua.

Técnica

Examen fisicoquímico

1. Recolectar la parte media de la micción, de la primera orina de la mañana en un recipiente limpio y seco.
2. Antes de vaciar la muestra en un tubo de ensaye de 13 x 100, homogenizar bien la muestra.
3. Sumergir la tira reactiva en el tubo que contiene la muestra durante 1 segundo.
4. Eliminar el exceso de orina sacudiendo suavemente el borde longitudinal de la tira contra un papel absorbente.
5. Leer los resultados a los 60 segundos en un lugar adecuadamente iluminado y utilizando la escala de colores que aparece en el envase de las tiras. Descarte los cambios de color que aparecen solo en los bordes de las almohadillas o que tienen lugar pasados los 2 minutos. los resultados de los leucocitos pueden leerse en lapso de los 90 a 120 segundos.
6. Anotar los metabolitos donde se registraron cambios en el color de las almohadillas, indicando la concentración donde coincida el color.



Figura 1. Esquema de la forma como debe sumergirse la tira en la orina.

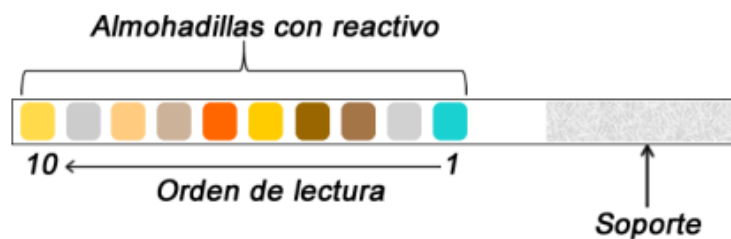


Figura 2. Esquema de una tira reactiva para 10 parámetros.



Preparación del sedimento

1. Proceder a centrifugar la muestra de orina contenida en un tubo de 13x100 de 2500 a 3000 rpm durante 5 minutos.
2. Decantar el sobrenadante con un movimiento rápido, dejando sólo el sedimento en el fondo del tubo.
3. Homogenizar el sedimento y depositar una pequeña gota sobre un portaobjetos, cubrirlo con un cubreobjetos.
4. Dejar reposar durante 1 minuto aproximadamente.
5. Observar al microscopio con objetivo de 40x
6. Buscar los diferentes tipos de células, cilindros, bacterias, levaduras, cristales, etc.
7. Reportar lo observado.
8. Desechar el material y la muestra de acuerdo a la NORMA Oficial Mexicana.

Valores de referencia.

Características generales y cuantificaciones	Determinaciones químicas	Examen microscópico del sedimento
Color: <i>Amarillo pálido ámbar.</i>	Glucosa: <i>Negativo</i>	Cilindros: <i>Negativos , algún cilindro hialino ocasional</i>
Aspecto: <i>Transparente a ligeramente turbio.</i>	Cetonas: <i>Negativo</i>	Eritrocitos: <i>Negativos o raros (hasta 5/campo)</i>
Densidad: <i>1.015 a 1.025 con ingestión normal de líquidos.</i>	Sangre: <i>Negativo</i>	Cristales: <i>Negativo</i>
pH: <i>4.5 a 8.0 El individuo promedio tiene un pH de 5 a 6</i>	Urobilinógeno: <i>0.1 a 1.0</i>	Leucocitos: <i>Negativos o raros (hasta 10/campo)</i>
Volumen: <i>1,500 a 2,000 mL/24 h</i>	Nitratos: <i>Negativo</i>	Células epiteliales escasas
<i>Esterasa leucocitaria negativa</i>		

Cuestionario.

1. Esquematiza como se lleva a cabo la formación de la orina
2. ¿Cuál es el fundamento de las reacciones químicas que se llevan a cabo en la tira para determinar glucosa, proteínas, nitritos, leucocitos, eritrocitos y cetonas en la orina?
3. Explique el significado clínico de un resultado positivo en la tira reactiva para glucosa, proteínas, cetonas, bilirrubina y nitritos en la orina.
4. Mencione las sales, cristales y células que se pueden encontrar con mayor frecuencia en la orina y su relación con patologías renales.
5. Si al analizar una muestra de orina encuentra que la tira reactiva detecta nitritos y leucocitos positivo, y al hacer la observación microscópica encuentra bacterias incontables y leucocitos abundantes, ¿Qué patología sugieren los resultados?



Referencias

- Bishop, M. L., Fody, E. P., y Schoeff, L. E. (2007). *Química Clínica principios, procedimientos y correlaciones*. Mc. Graw Hill.
- Kaplan, L. A., Pesce, A. J., y Kazmierczak, S. C. (2003). *Clinical Chemistry: theory, analysis, correlation*. (4a ed.). Mosby, St. Louis.
- Kolman – Ohm. (2004). *Bioquímica texto y atlas*. Panamericana.
- Ruíz, G. (2004). *Fundamentos de interpretación Clínica de los exámenes de Laboratorio*. Editorial Médica Panamericana.
- Thomas, M. D. (2007). *Bioquímica texto y aplicaciones clínicas*. Reverte.
- Wallach, J. (2002). *Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio*. Editorial: Masson.



Determinación de hemoglobina en sangre

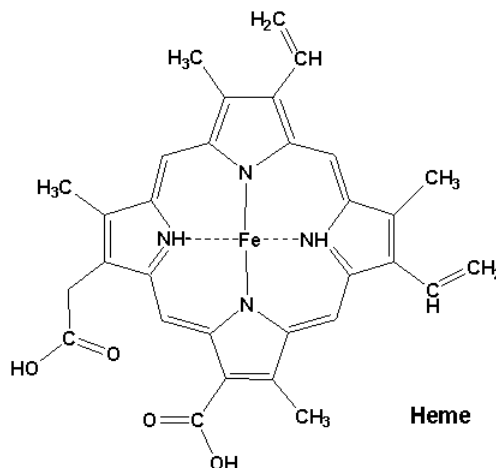
Objetivos

- Determinar cuantitativamente la concentración de la hemoglobina plasmática.
- Interpretar los resultados obtenidos con las patologías más comunes, de acuerdo a los valores de referencia.

Generalidades

La hemoglobina, principal componente de los eritrocitos, sirve como vehículo para el oxígeno y dióxido de carbono. Está formada por aminoácidos que constituyen una sola proteína llamada globina y un compuesto tetrapirrólico llamado hem, heme o hemo, que contiene átomos de hierro y el pigmento rojo porfirina. El hierro es la porción de la hemoglobina que se combina fácilmente con el oxígeno y concede a la sangre su color rojo característico. Cada gramo de hemoglobina transporta.

1.34 mL de oxígeno. La capacidad de la sangre para combinarse con el oxígeno es directamente proporcional a la concentración de hemoglobina, y no al número de eritrocitos, debido a que algunos glóbulos rojos contienen más hemoglobina que otros. Esta es la razón por la que es importante determinar la hemoglobina al estudiar la anemia.



Significado clínico

La medición de la hemoglobina forma parte de la biometría hemática. Sirve para detectar enfermedades que se acompañan de anemia, ayuda a determinar la intensidad de la anemia, a vigilar la respuesta al tratamiento y a valorar la policitemia.

Se observa hemoglobina baja en la anemia (situación en la que existe reducción en la concentración de hemoglobina). Es difícil afirmar de manera explícita cual es el nivel de la hemoglobina que representa la presencia de anemia per se por la gran cantidad de adaptación y eficiencia que tiene el organismo para responder a las distintas concentraciones de hemoglobina en la sangre. Esta cifra debe de valorarse junto con la cuenta eritrocitaria y el hematocrito.



- Hipertiroidismo
- Cirrosis hepática
- Hemorragia abundante
- Reacciones hemolíticas causadas por:
 1. Transfusión de sangre incompatible
 2. Reacción a sustancias químicas y fármacos
 3. Reacción a microorganismos infecciosos
 4. Reacción a factores físicos (quemaduras intensas o prótesis valvulares cardíacas)

La hemoglobina aumenta cuando hay hemoconcentración (cualquier situación como policitemia y quemaduras intensas en las que aumenta el número de eritrocitos circulantes por arriba de lo normal).

- Neumopatía obstructiva
- Insuficiencia cardíaca congestiva
- Policitemia vera

Aviso Clínico

La cifra preocupante de hemoglobina es <5.0 g/dl, ya que provoca shock hipovolémico, insuficiencia cardíaca y muerte.

Una cifra $>$ a 20g/dl provoca coagulación capilar por hemoconcentración.

Materiales, reactivos y equipo

Materiales

- Una Jeringa de 5 mL o tubo Vacutainer morado
- Una Ligadura
- Algodón
- Tres celdas de 1cm paso de luz
- Seis tubos de ensaye
- En caso de usar tubo Vacutainer aguja y camisa de extracción
- Una Gradilla

Reactivos

- Suero separado lo antes posible de los hematíes o plasma
- Estuche de Hemoglobina (Spinreact)
- Alcohol al 70%
- EDTA al 1%

Equipo

- Espectrofotómetro
- Centrifuga
- Balanza de dos platos
- Pipeta automática 1000 μ L
- Pipeta automática 200 μ L



Servicios. Electricidad y agua.

Técnica

- Ver anexo de la práctica.

Resultados

Interpretar los resultados obtenidos.

Discutir la correlación clínica del aumento y disminución de hemoglobina sérica.

Cuestionario

1. ¿De cuántos aminoácidos constan aproximadamente, las cadenas de globina?
2. ¿En qué cromosoma se codifica la síntesis de las cadenas globínicas α ?
3. ¿Cuál es el nombre de la hemoglobina que consta de 2 cadenas globínicas α y 2 δ ?
4. ¿Cuál es el nombre de la hemoglobina que está cargada de:
 - a. CO_2
 - b. O_2
5. ¿Cuál es el método que recomienda el Comité Internacional para la estandarización de la Hematología para la determinación de hemoglobina?
6. Investiga la evolución de la hemoglobina en humanos desde el período prenatal.

Referencias

- Araujo-Castro, M. (2020). Eje hipotálamo hipofisario. Fisiología y patología. *Medicine*, 13(15), 846-855.
- Barret, K. E., Barman, M.S., Boitano, S. y Brooks. H. (2020). *GANONG Fisiología Médica*. (26a. Ed.). McGraw-Hill LANGE.
- Bernadette. F. Rodak. (2004). *Hematología Fundamentos y Aplicaciones Clínicas*. Editorial Panamericana.
- Boron, W. F. y Boulpaep, E. (2017). *Fisiología Médica*. (3a. Ed.). Elsevier.
- Cunningham, F. G., Kenneth, J., Leveno, J. S., Dashe, B. L., Hoffman, C. Y., Spong, B. M., y Casey. (2019). *Williams obstetricia*. (25a. Ed.). McGraw-Hill.
- Gardner, D. G., Shoback, D., y Muñoz, B. R. (2018). *Greenspan. Endocrinología básica y clínica*. (10a. Ed.). McGraw-Hill Interamericana Editores.
- Goldman, L., Ausiello, D. A., y Schafer, A. I. (eds.). (2021). *Goldman-Cecil. Tratado de medicina interna*. (26a. Ed.). Elsevier Health Sciences.
- Hall, J. E. (2021). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*. (14a. Ed.). Elsevier Health Sciences.
- Harrison, T. R., Kasper, D. L., Hauser, S., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Longo, D. L., y Loscalzo, J. (2018). *Harrison: principios de medicina interna*. (20a. Ed.). México: McGraw-Hill.
- Melmed, S. (ed.). (2021). *Williams. Tratado de endocrinología*. (14a. Ed.). Elsevier Health Sciences



Anexo



HEMOGLOBIN

Hemoglobina
Drabkin. Colorimétrico

Determinación cuantitativa de hemoglobina IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La hemoglobina es oxidada por la acción del ferricianuro a metahemoglobina y mediante el cianuro se convierte en cianmetahemoglobina.

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de hemoglobina presente en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La hemoglobina es una proteína que contiene hierro, otorga el color rojo a la sangre. Se encuentra en los glóbulos rojos y es la encargada del transporte de oxígeno por la sangre desde los pulmones a los tejidos. Cuando el nivel de hemoglobina aparece por debajo de los niveles normales indica anemia que puede obedecer a diferentes causas: anemia primaria, cáncer, embarazo, enfermedades renales o hemorragias.

Si el nivel de hemoglobina es alto puede deberse a cardiopatías, deshidratación o estancia en lugares de gran altitud^{1,5,6}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

HEMOGLOBIN 50x	Ferricianuro de potasio	0,60 mmol/L
	Cianuro de potasio	77 mmol/L
	Dihidrogeno fosfato de potasio	2 mmol/L

Opcional

HEMOGLOBIN CAL Ref.1001232	Patrón de Hemoglobina Origen animal	15 g/dL
--------------------------------------	--	---------

PRECAUCIONES

R: H301+H311+H331-Tóxico en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación. H412-Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

CAL: H412-Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT):

- Para 5 mL 4,9 mL agua destilada + 2 gotas de Reactivo
- Para 250 mL 245 mL agua destilada + 1 frasco (5 mL) de Reactivo

Mezclar bien.
Estabilidad: 2 meses en nevera a 2-8°C, protegido de la luz.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 540 nm $\geq 0,012$.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 540 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Sangre capilar o venosa¹.

Usar anticoagulantes como EDTA, heparina u oxalato.

Estabilidad de la muestra: 1 semana a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 540 nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear:

A) MÉTODO MACRO

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	5,0	5,0	5,0
Calibrador (µL)	--	20	--
Muestra (µL)	--	--	20

B) MÉTODO MICRO

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	2,5	2,5	2,5
Calibrador (µL)	--	10	--
Muestra (µL)	--	--	10

- Mezclar e incubar 3 minutos a temperatura ambiente (15-25°C).
- Leer la absorbancia (A) del calibrador y la muestra, frente al Blanco de reactivo.

CÁLCULOS

- Con factor²:

$$(A) \text{ Muestra} \times 36,77 = \text{g/dL de hemoglobina en la muestra}$$

- Con Patrón:

$$(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco} \times 15 (\text{Conc. Patrón}) = \text{g/dL de hemoglobina en la muestra}$$

$$(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}$$

CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

Hombres 14 - 18 g/dL \cong 8,7 - 11,2 mmol/L

Mujeres 12 - 16 g/dL \cong 7,5 - 9,9 mmol/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el *límite de detección* de 0,108 g/dL hasta el *límite de linealidad* de 20 g/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con NaCl 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
	Media (g/dL)	SD	Media	SD
Media (g/dL)	8,00	15,2	7,81	15,1
SD	0,29	0,33	0,19	0,26
CV (%)	3,59	2,19	2,51	1,74

Sensibilidad analítica: 1 g/dL = 0,027 A.

Exactitud: Los reactivos de SPINREACT no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la hemoglobina^{3,4}.

BIBLIOGRAFÍA

- Franco R S. Hemoglobin. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1294-1296 and 418.
- Van Kampen EJ et al. Standardization of hemoglobinometry Clin. Chim 1961;6: 438-544.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACCC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACCC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 1001230	Cont.	R: 4 x 5 mL
Ref: 1001230S		R: 4 x 5 mL, CAL: 1 x 1 mL



Determinación de hematocrito

Objetivos

- *Determinar cuantitativamente la concentración del hematocrito con tubo de Wintrobe o el microhematocrito utilizando un capilar en sangre total.*
- *Interpretar los resultados obtenidos con las patologías más comunes, de acuerdo a los valores de referencia.*

Generalidades

La palabra hematocrito significa “separar la sangre”, lo que describe el mecanismo de la prueba, ya que el plasma y las células de la sangre se separan mediante centrifugación.

Cuando se centrifuga la sangre, la fracción forme, que contiene los hematíes, se agrupa en el fondo del tubo, y el plasma queda en forma de sobrenadante.

El valor hematocrito, o simplemente hematocrito (Hct, Htc o Hto) es la relación existente entre el volumen ocupado por los hematíes y el ocupado por la sangre total, expresada en forma de porcentaje.

Este valor no es exactamente igual en todas las zonas vasculares del organismo. Así pues el HCT obtenido con sangre capilar es algo superior al logrado a partir de sangre venosa.

Significado clínico

Un hematocrito bajo indica anemia, situación en la que existe reducción del hematocrito, cantidad de hemoglobina y número de eritrocitos circulantes dependiendo del tipo de anemia.

Un hematocrito de 30 ó menos significa que el paciente puede tener anemia moderada o grave. Esto también se puede observar en:

- *Leucemia*
- *Hipertiroidismo*
- *Cirrosis*
- *Hemorragia masiva y aguda*
- *Reacción hemolítica. Situación que se observa al transfundir sangre incompatible o como reacción a sustancias químicas o fármacos, microorganismos infecciosos o factores físicos (quemaduras, prótesis valvulares cardíacas).*

El hematocrito se eleva en la policitemia, que es el aumento en el número de eritrocitos basado en el HCT y el valor de la hemoglobina, además en:

- *Eritrocitosis*
- *Deshidratación intensa*



El hematocrito puede o no ser confiable inmediatamente después de una hemorragia moderada e inmediatamente después de las transfusiones o no. Sin embargo, constituye un buen indicador de la cantidad de sangre que se haya perdido hasta el momento en que se obtiene la muestra.

Generalmente el Hct es paralelo a la cuenta eritrocitaria cuando las células son de tamaño normal, también se eleva el hematocrito. No obstante, para el paciente con anemia microcítica o macrocítica, esta relación no es igual. Si un paciente cursa con anemia por deficiencia de hierro con eritrocitos pequeños, el Hct disminuye debido a que las células microcíticas forman un paquete más pequeño. Sin embargo, la cuenta eritrocitaria es normal.

Material, reactivos y equipo

Material

- Dos Pipetas Pasteur
- Un tubo de Wintrobe
- Cuatro tubos de ensaye 13x100
- Una Gradilla
- Dos capilares sin heparina
- Plastilina

Reactivos

- EDTA 5 %

Equipo

- Centrífuga
- Balanza granataria

Servicios: Electricidad y agua.

Técnica

Macrohematocrito

- Extraer 3 mL de sangre venosa con jeringa o con Vacutainer.
- Colocarla en un tubo de ensaye de 13x100 mm limpio y seco que contiene 0.1 mL de EDTA al 1% por cada mL de sangre.
- Mezclar para homogenizar.
- Con una pipeta Pasteur de talle largo llenar un tubo de Wintrobe hasta la marca de 10 evitando que se formen burbujas. Adaptarlo con algodón en un tubo vacío cuidando que el tubo de Wintrobe no pegue con el tacómetro.
- Igualar pesos utilizando un tubo vacío con agua.
- Centrifugar a 3000 rpm durante 30 minutos.
- Tomar la lectura del hematocrito directamente del tubo de Wintrobe que está graduado.



Microhematocrito

- Llenar 2 terceras partes de un capilar de sangre total.
- Sellar un extremo del capilar con plastilina o con un encendedor.
- Adherirlo a un tubo de ensaye vacío con cinta adhesiva.
- Igualar pesos utilizando un tubo vacío con agua.
- Leer el porcentaje de hematocrito midiendo con el aparato especial o con una regla en milímetros.

Rangos de referencia.

Hematocrito	%
0 a 2 semanas	44 a 64
2 a 8 semanas	39 a 59
2 a 6 meses	35 a 49
6 meses a un año	29 a 43
1 a 6 años	30 a 40
6 a 16 años	32 a 42
16 a 18 años	34 a 44
Mujeres adultas	36 a 48
Hombres adultos	42 a 52

Aviso clínico

1. El hematocrito < 20% produce shock hipovolémico, insuficiencia cardíaca y muerte.
2. El hematocrito > 60% provoca coagulación sanguínea espontánea.

Resultados

Interpretar los resultados obtenidos.

Discutir la correlación clínica del aumento y disminución de hematocrito sérico.



Cuestionario

1. *Explica por qué el valor de HCT es mayor en personas que:*
 - a. *Viven a mayor altitud*
 - b. *En hombres*
2. *Explica por qué al valor del Hct se le puede considerar con ± 2 unidades sobre el valor obtenido.*
3. *Explica por qué un valor bajo del Hct no se puede tomar como un signo definitivo de anemia.*
4. *Explica por qué un valor alto del Hct no se puede tomar como un signo definitivo de poliglobulia.*
5. *Cuál es la interpretación del Hct.*

Referencias

- Barret, K. E., Barman, M. S., Boitano, S. y Brooks, H. (2020). *GANONG Fisiología Médica*. (26a. Ed.). McGraw-Hill LANGE.
- Bernadette, F. Rodak, (2004). *Hematología Fundamentos y Aplicaciones Clínicas*. Editorial Panamericana.
- Boron, W. F. y Boulpaep, E. (2017). *Fisiología Médica*. (3a. Ed.). Elsevier.
- Goldman, L., Ausiello, D. A., y Schafer, A. I. (eds.). (2021). *Goldman-Cecil. Tratado de medicina interna*. (26a. Ed.). Elsevier Health Sciences.
- Hall, J. E. (2021). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*. (14a. Ed.). Elsevier Health Sciences.
- Harrison, T. R., Kasper, D. L., Hauser, S., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Longo, D. L., y Loscalzo, J. (2018). *Harrison: principios de medicina interna*. (20a. Ed.). McGraw-Hill.



Materiales, reactivos y equipo

Materiales

- Una Jeringa de 5 mL o tubo Vacutainer rojo
- Una Ligadura
- Algodón
- Tres celdas de 1cm paso de luz
- Seis tubos de ensaye
- En caso de usar tubo Vacutainer aguja y camisa de extracción
- Una Gradilla

Reactivos

- Suero separado lo antes posible de los hematíes o plasma
- Estuche de Fosfatasa ácida (Spinreact)
- Alcohol al 70%

Equipo

- Espectrofotómetro
- Centrifuga
- Balanza de dos platos
- Pipeta automática 1000 μ L
- Pipeta automática 200 μ L

Servicios. Electricidad y agua

Técnica

- Ver anexo de la práctica.

Resultados

Interpretar los resultados obtenidos.

Discutir la correlación clínica del aumento y disminución de fosfatasa ácida sérica.

Cuestionario

1. ¿Qué significa que la fosfatasa ácida sea resistente al tartrato?
2. Investiga las patologías donde se eleva y disminuye la fosfatasa ácida
3. ¿Qué es el Antígeno Prostático Específico (PAS)?
4. ¿Cuáles son los valores de referencia e interpretación del PAS?
5. Investiga por qué no se debe usar plasma.



Referencias

- Barret, K. E., Barman M. S., Boitano, S. y Brooks, H. (2020). *GANONG Fisiología Médica*. (26a. Ed.). México: McGraw-Hill LANGE.
- Boron, W. F. y Boulpaep, E. (2017). *Fisiología Médica*. (3a. Ed.). España: Elsevier.
- Goldman, L., Ausiello, D. A., y Schafer, A. I. (Eds.). (2021). *Goldman-Cecil. Tratado de medicina interna*. (26a. Ed.). Elsevier Health Sciences.
- Hall, J. E. (2021). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*. (14a. Ed.). Elsevier Health Sciences.
- Harrison, T. R., Kasper, D. L., Hauser, S., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Longo, D. L., y Loscalzo, J. (2018). *Harrison: principios de medicina interna*. (20a. Ed.). México: McGraw-Hill.



Anexo



Fosfatasa ácida

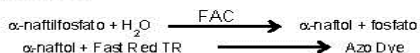
α -Naftil fosfato. Cinético

Determinación cuantitativa de fosfatasa ácida (FAC) IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Método Hillmann: La fosfatasa ácida a pH 5,0 hidroliza el α -naftil fosfato o fosfato inorgánico a α -naftol.



El α -naftol se hace reaccionar con un cromógeno diazotado formando un compuesto coloreado con pico de absorción a 405 nm.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La fosfatasa ácida es una enzima que se encuentra presente en casi todos los tejidos del organismo, siendo particularmente altas en próstata, estómago, hígado, músculo, bazo, eritrocitos y plaquetas.

Niveles elevados de fosfatasas ácidas se encuentran en alteraciones prostáticas como hipertrofia, prostatitis o carcinoma, en enfermedades hematológicas, óseas (enfermedad de Paget) o hepáticas.

Niveles bajos de fosfatasa ácida no tiene significado clínico^{1,4,5}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1 Tampón	Citrato sódico pH 5,2	50 mmol/L
R 2 Sustrato	α -Naftil fosfato Fast Red TR	10 mmol/L 6 mmol/L
R 3 Tartrato	Tartrato sódico	2 mmol/L
R 4	Hidróxido de sodio Ácido acético	1800 mmol/L 0,5 mol/L

PRECAUCIONES

R3: H314-Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

- Reactivo de trabajo (RT):
Ref. 1001121
Disolver (→) un comprimido de R2 Sustrato en un vial de R1.
Ref. 1001122
Disolver (→) un comprimido de R2 Sustrato en 15 mL de R1.
Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.
Estabilidad: 2 días a 2-8°C o 6 horas a temperatura ambiente.
- R 3 y R 4: Listo para su uso. (R4 Incluido en Ref.1001121).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.
No usar los comprimidos si aparecen fragmentados.
No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias del Blanco (A) a 405 nm \geq 0,44.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 405 nm.
- Baño termostable a 30°C ó 37°C (\pm 0,1°C)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero¹. Usar suero libre de partículas y hemólisis, separado de los hematies lo antes posible. No usar plasma.
La fosfatasa ácida en suero es muy inestable, estabilizar mediante la adición de 50 μ L de ácido acético (R4) por cada mL de muestra. Estabilidad: 7 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 405 nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura constante: 30°C / 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.
- Pipetear en una cubeta.

	FAC Total (T)	FAC No Prostática (No P)
RT (mL)	1,0	1,0
R 3 (μ L)	--	10
Muestra (μ L)	100	100

- Mezclar, incubar 5 minutos.
- Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.
- Calcular el promedio de la diferencia de absorbancia por minuto (ΔA /min).

CÁLCULOS

ΔA /min \times 750 = U/L de FAC (T)
750 \times (ΔE /min FAC (T) - ΔE /min FAC No Inhibida por Tartrato) = U/L de FAC Prostática.

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 μ mol de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados SPINCONTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA^{4,5}

	30°C	37°C
Fosf. ácida total:		
Hombres	< 4,3 U/L	< 5,4 U/L
Mujeres	< 3,1 U/L	< 4,2 U/L

Fosf. ácida Prostática: < 1,5 U/L < 1,7 U/L
Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO (FAC Total)

Rango de medida: Desde el límite de detección 0 U/L hasta el límite de linealidad 150 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CIN a 9 μ L, y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intra serie (n= 20)		Inter serie (n= 20)	
Media (U/L)	26,7	57,5	29,3	63,0
SD	0,15	0,19	1,70	2,48
CV (%)	0,58	0,34	5,82	3,94

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,00156 ΔA /min.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales.

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r^2): 0,970510

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0,82963x + 1,06196$

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

La hemólisis interfiere debido a la elevada concentración de fosfatasa ácida presente en los hematies¹.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la fosfatasa ácida^{2,3}.

NOTAS

SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbott L. et al. Acid phosphatase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto, Princeton 1984; 1079-1083.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref1001121	Cont	R1: 18 x 2 mL, R2: 18 → 2 mL,
Ref1001122		R3: 1 x 1 mL, R4: 1 x 1 mL R1: 1 x 150 mL, R2: 10 → 15 mL, R3: 1 x 2 mL





Determinación de fosfatasa alcalina sérica

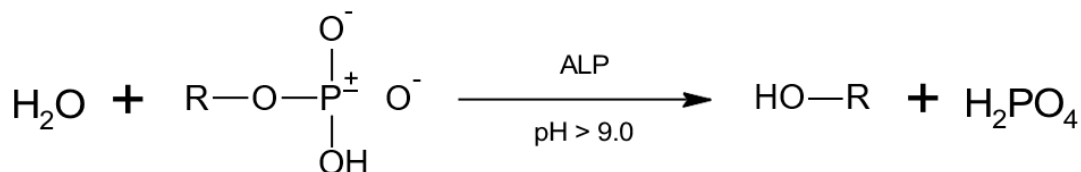
Objetivos

- Determinar la concentración de la fosfatasa alcalina sérica.
- Interpretar el resultado obtenido relacionándolo con las patologías más comunes

Generalidades

La Fosfatasa alcalina (ALP) es el nombre genérico de un grupo de enzimas (E.C 3.1.3.1) que presentan su máximo de actividad en el rango de pH de 9.0 a 10.5. Estas enzimas catalizan la electrólisis de gran variedad de fosfomonoésteres. Específicamente la ALP libera fósforo inorgánico con producción simultánea de un alcohol, en presencia de Mg⁺ como activador.

La reacción enzimática general de la fosfatasa alcalina se lleva a cabo como sigue:



La actividad de la ALP se presenta en superficies celulares en la mayor parte del tejido humano. Las concentraciones más altas se encuentran en el intestino, hígado, huesos, bazo, placenta y riñón. En el hígado la enzima se localiza en membranas canaliculares sinusoidales y biliares; la actividad en el hueso está confinada a los osteoblastos.

La ALP está constituida de nueve isoenzimas de las cuales se han estudiado principalmente las derivadas de hígado, hueso, intestino y placenta.

Isoenzima	Comentario
Hepática	Incrementa en enfermedades hepatocelulares o enfermedad hepática obstructiva, electroforéticamente puede dividirse en dos fracciones, la principal y la fracción llamada hígado rápido o hígado α ₁ , en enfermedad hepática se incrementa rápidamente la fracción principal. La colestasis estimula a los hepatocitos a sintetizar ALP y los ácidos biliares facilitan su liberación de la membrana celular.
Hueso	Se incrementa debido a la actividad de los osteoblastos.
Intestino	Su presencia depende del grupo sanguíneo y el estado secretor del individuo. Los individuos que tienen grupo sanguíneo B u O y son secretores tienen más probabilidades de tener esta fracción. En apariencia los individuos con eritrocitos del grupo A se unen con la ALP. Además, en estos individuos los incrementos de ALP intestinal ocurren después de consumir una comida grasosa.
Placenta	Es la isoenzima más termoestable, resiste la desnaturalización térmica por 30 minutos a 65° C, le siguen en estabilidad las isoenzimas intestinal, hepática ósea.



Materiales, reactivos y equipo

Materiales

- Una Jeringa de 5 mL o tubo Vacutainer rojo o verde
- Una Ligadura
- Algodón
- Tres celdas de 1cm paso de luz
- Seis tubos de ensaye
- En caso de usar tubo Vacutainer aguja y camisa de extracción
- Una Gradilla

Equipo

- Espectrofotómetro
- Centrífuga
- Balanza de dos platos
- Pipeta automática 1000 μ L
- Pipeta automática 200 μ L

Reactivos

- Suero separado lo antes posible de los hematíes o plasma
- Estuche de Fosfatasa alcalina (Spinreact)
- Alcohol al 70%
- Heparina

Servicios. Electricidad y agua.

Técnica

- Ver anexo de la práctica.

Resultados

Interpretar los resultados obtenidos.

Discutir la correlación clínica del aumento y disminución de fosfatasa alcalina sérica.

Cuestionario

1. *¿Por qué se encuentran más altos los valores de referencia en los niños y adolescentes?*
2. *¿Qué son los osteoblastos?*
3. *¿Qué es la enfermedad de Paget y qué relación tiene con la ALP?*
4. *¿Cómo afectan los ritmos biológicos a la concentración de ALP?*
5. *¿Cuáles son los valores de referencia en unidades internacionales (SI) y como se efectúa la conversión?*



Referencias

- Barret, K. E., Barman M. S., Boitano, S. y Brooks, H. (2020). *GANONG Fisiología Médica. (26a. Ed.)*. México: McGraw-Hill LANGE.
- Boron, W. F. y Boulpaep, E. (2017). *Fisiología Médica. (3a. Ed.)*. España: Elsevier.
- Goldman, L., Ausiello, D. A., y Schafer, A. I. (Eds.). (2021). *Goldman-Cecil. Tratado de medicina interna. (26a. Ed.)*. Elsevier Health Sciences.
- Hall, J. E. (2021). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica. (14a. Ed.)*. Elsevier Health Sciences.
- Harrison, T. R., Kasper, D. L., Hauser, S., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Longo, D. L., y Loscalzo, J. (2018). *Harrison: principios de medicina interna. (20a. Ed.)*. México: McGraw-Hill.



Anexo



CE ALP-LQ

Fosfatasa alcalina
p-Nitrofenilfosfato. Cinético. Líquido. DGKC

Determinación cuantitativa de fosfatasa alcalina (FAL)
IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La fosfatasa alcalina (FAL) cataliza la hidrólisis del p-nitrofenilfosfato (pNPP) a pH 10,4 liberando p-nitrofenol y fosfato, según la siguiente reacción:



La velocidad de formación del p-Nitrofenol, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de fosfatasa alcalina en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Las fosfatasas alcalinas son enzimas que se encuentran presentes en casi todos los tejidos del organismo, siendo particularmente alta su presencia en huesos, hígado, placenta, intestinos y riñón.

Tiene importancia clínica tanto su aumento como su disminución de los niveles en plasma.

Causas más probables de aumento del nivel de FAL:

Enfermedad ósea de Paget, obstrucciones hepáticas, hepatitis, hepatotoxicidad por medicamentos y osteomalacia.

Causas más probables de disminución del nivel de FAL:

Cretinismo y déficit de vitamina C^{1,5,6}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1	Dietanolamina (DEA) pH 10,4	1 mmol/L
Tampón	Cloruro de magnesio	0,5 mmol/L
R 2		
Substrato	p-Nitrofenilfosfato (pNPP)	10 mmol/L

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT):

Mezclar: 1 vol. de (R2) Substrato + 4 vol. (R1) Tampón.

Estabilidad: 1 mes a 2-8°C o 10 días a temperatura ambiente.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias del Blanco a 405 \geq 1,30.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 405 nm.
- Baño termostable a 25°C, 30°C, 37°C o 37°C (\pm 0,1°C)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma heparinizado¹. Usar suero libre de hemólisis, separado de los hematíes lo antes posible.

Estabilidad: 3 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 405 nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura constante 25°C / 30°C / 37°C

- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.
- Pipetear en una cubeta:

RT (mL)	1,2
Muestra (μ L)	20

- Mezclar, incubar 1 minuto.
- Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronómetro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.
- Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto (ΔA /min).

CÁLCULOS

ΔA /min x 3300 = U/L de FAL

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 μ mol de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

Factores de conversión de temperaturas

Los resultados deben transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

Temperatura de medición	Factor para convertir a		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,22	2,64
30°C	0,82	1,00	1,33
37°C	0,61	0,75	1,00

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

	25°C	30°C	37°C
Niños (1-14 años)	< 400 U/L	< 480 U/L	< 645 U/L
Adultos	60 - 170 U/L	73 - 207 U/L	98 - 279 U/L

Factores que pueden afectar los valores de referencia son: ejercicio, periodos de crecimiento en niños y embarazo.

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 4 U/L hasta el límite de linealidad de 325 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/10 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.

Precisión:

Media (U/L)	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
	170	408	165	446
SD	3,94	7,45	2,26	5,17
CV (%)	2,30	1,82	1,37	1,16

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,0003 ΔA /min.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r): 0,99.

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0,9995x - 1,1116$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

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 hematíes^{1,2}. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la fosfatasa alcalina^{3,4}.

NOTAS

SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Wenger C. et al. Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St.Louis, Toronto, Princeton 1984; 1094-1098.
- Rosalki S et al. Clin Chem 1993; 39/4: 648-652.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 41240	Cont.	R1	60 mL
		R2	15 mL
Ref: 41242		R1	240 mL
		R2	60 mL



IMPORTADORES EXCLUSIVOS: LAB CENTER DE MEXICO S.A. DE C.V.
Colina de las Termas #35 Fracc. Boulevardes Naucalpan Edo. de México C.P. 53140
TEL.: 01 (55) 5360-6772 LADA SIN COSTO 01 800 500 SPIN (7746)
www.spinreact.com.mx info@spinreact.com.mx



Determinación de calcio sérico

Objetivos

- *Cuantificar la concentración de calcio sérico para establecer las causas por las que puede haber una hipercalcemia e hipocalcemia.*
- *Interpretar resultados obtenidos relacionándolos con las patologías más comunes.*

Generalidades

El contenido de calcio en el adulto es de 1000 a 2000 g, de los cuales de 98 a 99 % se concentra en el esqueleto en forma de cristales de hidroxapatita; el resto se conserva en el líquido extracelular y tejidos blandos. Su principal función es proporcionar la integridad estructural esquelética y participa en múltiples procesos bioquímicos en el citoplasma y en el líquido extracelular: Cascada de coagulación, excitación muscular y estabilidad de las membranas plasmáticas.

Funciones a nivel extracelular (cofactores factor VII, IX y X), función intracelular: segundo mensajero, crecimiento y diferenciación celular, transporte de hormonas, transmisión de impulsos nerviosos, contracción muscular.

Significado clínico

El calcio se absorbe en intestino delgado (ingesta de 1000mg diarios) y se excreta en heces de 600 a 800mg. El calcio circula en el intestino en 45 a 50% en forma iónica (libre) y 40% unida a la albúmina y 10% unida a complejos (fosforo, citratos y bicarbonatos)

La hipercalcemia puede ser debida a intoxicación por vitamina D, aumento de la retención renal, osteoporosis, sarcoidosis, tirotoxicosis, hiperparatiroidismo, mieloma múltiple, hipercalcemia idiopática infantil, carcinoma metastásico del hueso y enfermedad de Paget. La hipocalcemia puede ser causada por hipoparatiroidismo primario y secundario, osteodistrofia renal, deficiencia de vitamina D y raquitismo resistente a vitamina D, malnutrición y malabsorción intestinal.

En hiperfosfatemia existe hipocalcemia (ejemplos; lisis tumoral, rabdomiólisis y cáncer)

Cuando existe hipoalbuminemia (sx nefrótico, desnutrición, insuficiencia hepática) se tiene que realizar la corrección de calcio.

Por cada gramo de albumina, disminuye 0.8 mg/dL. Fórmula para corrección:

$$(4\text{-Albúmina}) \times 0.8 + \text{Calcio actual} = \text{CALCIO REAL}$$

La hormona PTH, secretada por las glándulas paratiroides, moviliza el calcio proveniente de los huesos, aumenta la resorción ósea, y la excreción de fosfatos por la orina.

La calcitonina secretada por la glándula tiroides, cumple acción hipocalcemiante, inhibe la resorción ósea para disminuir los niveles de calcio, por la inhibición de la actividad de los osteoblastos. Reduce los niveles de calcio al aumentar excreción por orina.



Materiales, reactivos y equipo

Materiales

- Una Jeringa de 5 mL o tubo Vacutainer rojo o verde
- Una Ligadura
- Algodón
- Tres celdas de 1cm paso de luz
- Seis tubos de ensaye
- En caso de usar tubo Vacutainer aguja y camisa de extracción
- Una Gradilla

Reactivos

- Suero separado lo antes posible de los hematíes.
- Estuche de Calcio (Spinreact)
- Alcohol al 70%
- Heparina

Equipo

- Espectrofotómetro
- Centrífuga
- Balanza de dos platos
- Pipeta automática 1000 μ L
- Pipeta automática 200 μ L

Servicios. Electricidad y agua.

Técnica

- Ver anexo de la práctica.

Resultados

Interpretar los resultados obtenidos.

Discutir la correlación clínica del aumento y disminución de calcio sérico

Cuestionario

1. Mencione y explique las causas de hipercalcemia.
2. Mencione los síntomas de hipocalcemia.
3. Explique la regulación de la síntesis y secreción de PTH, calcitonina y $1,25(OH)_2$ vitamina D y su función.
4. Investiga cómo se determina la hipocalcemia en un electrocardiograma.
5. Investiga qué hormonas participan en el metabolismo del calcio y cuál es su función.



Referencias

Barret, K. E., Barman M. S., Boitano, S. y Brooks H. (2020). *GANONG Fisiología Médica*. (26a. Ed.). McGraw-Hill LANGE.

Boron, W. F. y Boulpaep E. (2017). *Fisiología Médica*. (3a. Ed.). Elsevier.

Brotons, A. (2020). *Cardiología pediátrica*. CTO Editorial.

Goldman, L., Ausiello, D. A., y Schafer, A. I. (Eds.). (2021). *Goldman-Cecil. Tratado de medicina interna*. (26a. Ed.). Elsevier Health Sciences.

Hall, J. E. (2021). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*. (14a. Ed.). Elsevier Health Sciences.

Harrison, T. R., Kasper, D. L., Hauser, S., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Longo, D. L., y Loscalzo, J. (2018). *Harrison: principios de medicina interna*. (20a. Ed.). McGraw-Hill.



Anexo



CALCIUM-oC

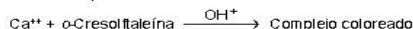
Calcio
o-Cresolftaleína. Colorimétrico

Determinación cuantitativa de calcio IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La medición del color se basa en la formación de un complejo coloreado entre el calcio de la muestra y la o-cresolftaleína, en medio alcalino:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de calcio presente en la muestra ensayada^{1,2,3}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

El calcio es el mineral más abundante e importante del cuerpo humano, el 99 % se halla en los huesos.

Una disminución de los niveles de albúmina causa una disminución del calcio en suero. Niveles bajos de calcio pueden atribuirse a hipoparatiroidismo, pseudohipoparatiroidismo, déficit de vitamina D, malnutrición o mala absorción. La mayoría de las causas de hipercalcemia son debidas a enfermedades oncológicas, intoxicación por vitamina D, aumento de la retención renal, osteoporosis, sarcoidosis, tirotoxicosis e hiperparatiroidismo^{1,6,7}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1		
Tampón	Etanolamina	500 mmol/L
R 2		
Cromógeno	o-Cresolftaleína	0,62 mmol/L
	8-Hidroxiquinoleína	69 mmol/L
CALCIUM CAL	Patrón primario acuoso de Calcio 10 mg/dL	

PRECAUCIONES

R2:H290-Puede ser corrosivo para los metales. H314-Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

CAL: H290-Puede ser corrosivo para los metales.

Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

Los reactivos y el patrón están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 570 nm $\geq 0,2$.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador con cubeta para lecturas a 570 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio^{8,9,10,11,12}.

MUESTRAS

- Suero o plasma¹: Separado lo antes posible de los hematíes. No usar oxalato o EDTA como anticoagulantes ya que interfieren en la determinación del calcio.
- Orina¹: Efectuar la recogida de orina de 24 horas en recipientes libres de calcio. Antes de la recogida adicionar al contenedor 10 mL de ácido nítrico al 50% (v/v). Anotar el volumen. Diluir la orina 1/2 en agua destilada para su análisis. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 2 (factor de dilución).

Estabilidad de la muestra: El calcio es estable 10 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 570 nm (550-590)
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura: 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
R 1 (mL)	2,0	2,0	2,0
R 2 (gotas)	1	1	1
Patrón ¹ (10 ⁻⁸ M)	-	20	-
Muestra (µL)	-	-	20

- Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C / 15-25°C.
- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 40 minutos.

CÁLCULOS

Suero o plasma

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 10 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de calcio en la muestra}$$

Orina 24 h

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 10 \times \text{vol. (dL) orina/24h} = \text{mg/24 h de calcio en la muestra}$$

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

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

Suero o plasma:

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

Orina:

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

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,17 mg/dL hasta el límite de linealidad de 15 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (mg/dL)	8,62	14,9	8,02	14,9
SD	0,06	0,12	0,14	0,28
CV (%)	0,68	0,81	1,76	1,89

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,043 A.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,99.

Ecuación de la recta de regresión: y= 0,97x + 0,26.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Triglicéridos $\leq 1,25$ g/L, no interfieren^{1,2,3}. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del calcio^{4,5}.

NOTAS

- CALCIUM CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- Se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso. Si se usa material de vidrio deberá lavarse con ácido nítrico diluido con agua (1/2), enjuagar varias veces con agua destilada y secar antes de su uso.
- La mayoría de detergentes destinados a uso del laboratorio contienen agentes quelantes. Trazas de los mismos, como consecuencia de un mal aclarado del material, invalida la determinación.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFÍA

- Farell E C. Calcium. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1051-1255 and 418.
- Kessler G. et al. Clin Chem 1964; 10 (8): 686-706.
- Connerty H. V. et al. Am J Clin Path 1996; 45 (3): 200-296.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACCC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACCC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref:1001060 Cont. R1: 2 x 150 mL, R2: 1 x 10 mL, CAL: 1 x 5 mL





Determinación de cloro sérico

Objetivos

- Cuantificar la cantidad de cloruro sérico como coadyuvante en el diagnóstico de la causa de hipercloremia o hipocloremia.
- Interpretar el resultado relacionándolo con las patologías más comunes.

Generalidades

El cloruro es un tipo de electrolito que funciona con otros, como el potasio, el sodio y el dióxido de carbono (CO_2) para ayudar a conservar el equilibrio apropiado de líquidos corporales y mantener el equilibrio ácido-básico del cuerpo.

Funciones del sodio y el cloruro.

Son iones extracelulares que ayudan a conservar el volumen de los compartimientos, al contribuir con cerca del 80% de la concentración osmolar de los líquidos orgánicos extracelulares.

Forman parte de la composición del jugo gástrico, el jugo pancreático, el jugo intestinal, vertidos en grandes cantidades en la luz del tubo digestivo. En situaciones patológicas, la pérdida de estas secreciones produce graves trastornos:

- El vómito causa la baja del cloro y conduce a la alcalosis.
- En la fístula duodenal, la pérdida del jugo pancreático lleva a la acidosis por la fuga de HCO_3^- y el catión Na^+ .
- En la diarrea intensa con pérdida de las secreciones pancreáticas o intestinales también se pierde agua, Na^+ y HCO_3^- .

Significado clínico

- Valores altos se relacionan con pérdidas excesivas de agua, alteraciones del flujo renal y fibrosis quística.
- Valores bajos nos indican acidosis metabólica, trastornos gastrointestinales o alteraciones de los mecanismos renales.

Materiales, reactivos y equipo

Materiales

- Una Jeringa de 5 mL o tubo Vacutainer rojo
- Una Ligadura
- Algodón
- Tres celdas de 1cm paso de luz
- Seis tubos de ensaye
- En caso de usar tubo Vacutainer aguja y camisa de extracción
- Una Gradilla

Reactivos

- Suero separado lo antes posible de los hematíes o plasma
- Estuche de Cloro (Spinreact)
- Alcohol al 70%
- EDTA



Equipo

- *Espectrofotómetro*
- *Centrífuga*
- *Balanza de dos platos*
- *Pipeta automática 1000 µL*
- *Pipeta automática 200 µL*

Servicios. *Electricidad y agua.*

Técnica

- *Ver anexo de la práctica.*

Resultados

Interpretar los resultados obtenidos.

Discutir la correlación clínica del aumento y disminución de cloro sérico.

Cuestionario

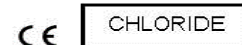
1. *Causas de hipercloremia*
2. *Causas de hipocloremia*
3. *¿Qué es y a que se debe la fibrosis quística?*
4. *Participación del cloro en la regulación del equilibrio ácido-base del organismo.*
5. *Esquematiza el metabolismo del cloro.*

Referencias

- Barret, K. E., Barman, M.S., Boitano, S. y Brooks, H. (2020). *GANONG Fisiología Médica*. (26a. Ed.). McGraw-Hill LANGE.
- Boron, W. F. y Boulpaep, E. (2017). *Fisiología Médica*. (3a. Ed.). Elsevier.
- Goldman, L., Ausiello, D. A., y Schafer, A. I. (Eds.). (2021). *Goldman-Cecil. Tratado de medicina interna*. (26a. Ed.). Elsevier Health Sciences.
- Hall, J. E. (2021). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*. (14a. Ed.). Elsevier Health Sciences.
- Harrison, T. R., Kasper, D. L., Hauser, S., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Longo, D. L., y Loscalzo, J. (2018). *Harrison: principios de medicina interna*. (20a. Ed.). McGraw-Hil.



Anexo



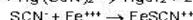
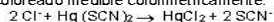
Cloruro
Tiocianato-Hg. Colorimétrico

Determinación cuantitativa de iones cloruro IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Los iones cloruro de la muestra reaccionan con tiocianato de mercurio desplazando el ión tiocianato. El tiocianato libre en presencia de iones férricos forma un complejo coloreado medible colorimétricamente:



La intensidad del color es proporcional a la concentración de iones cloruro presente en la muestra ensayada^{1,2,3,4}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

El control de la concentración de iones cloruro tiene gran interés clínico dada su importancia en el balance ácido-base y la regulación osmótica del fluido extracelular. Valores altos se relacionan con pérdidas excesivas de agua o alteraciones del flujo renal y fibrosis quística.

Valores bajos nos indican acidosis metabólica, trastornos gastrointestinales o alteración de los mecanismos renales^{2,7,8}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R (Nota 4)	Tiocianato de mercurio	4 mmol/L
Tiocianato de Mercurio	Nitrato de hierro	40 mmol/L
	Nitrato de mercurio	2 mmol/L
	Ácido nítrico	45 mmol/L
CLORURO CAL	Patrón primario acuoso de Cloruros	125 mmol/L

PRECAUCIONES

R: H314-P provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

Reactivo y Patrón están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 480 nm $\geq 0,15$.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador con cubeta para lecturas a 480 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio^{9,10,11,12}.

MUESTRAS

- Suero, plasma, Libre de hemólisis. Separado lo antes posible de los hematíes. No usar oxalato o EDTA como anticoagulantes ya que interfiere en los resultados.
- Orina¹: Efectuar la recogida de orina de 24 horas en recipientes libres de cloruros. Diluir la orina 1/2 en agua destilada para su análisis. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 2 (factor de dilución).

Estabilidad de la muestra: Los iones de cloruro son estables 1 semana a temperatura ambiente (15-25°C) o 15 días en nevera (2-8°C) o 1 mes congelado (-20°C).

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 480 (440-500) nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura: 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta^{9,10,11}

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón (Nota 5) (µL)	—	10	—
Muestra (µL)	—	—	10

- Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C / 15-25°C.
- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable 30 minutos.

CÁLCULOS

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 125 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mmol/L de iones cloruro}$$

$$\text{Orina 24 h: } \frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 125 \times \text{vol. (dL) orina/24 h} = \text{mmol/24 h iones cloruro}$$

cloruro

Factor de conversión: mmol/L = mEq/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1 0021 20 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, el reactivo y el material de calibración. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

Suero o plasma:	95 - 115 mmol/L
Orina:	110 - 250 mmol/24h

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,454 mmol/L hasta el límite de linealidad de 190 mmol/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con agua destilada y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
	Media (mmol/L)	SD	Media (mmol/L)	SD
Media (mmol/L)	84,2	1,14	82,5	1,11
SD	0,81	0,62	1,07	1,87
CV (%)	0,96	0,95	1,30	1,68

Sensibilidad analítica: 1 mmol/L = 0,00471 A.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales. Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r)²: 0,96731.

Ecuación de la recta de regresión: y=0,990x + 0,100.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Hemólisis. Los anticoagulantes a excepción de la heparina¹. Bilirrubina hasta 120 mg/L, albúmina bovina hasta 150 g/L y triglicéridos hasta 6 g/L no alteran significativamente los datos del ensayo⁴.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren con la determinación del cloruro^{5,6}.

NOTAS

- CHLORIDE CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- Se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso para evitar contaminaciones. En caso de utilizar material de vidrio deberá lavarse con una solución de H₂SO₄ - K₂Cr₂O₇, enjuagar varias veces con agua destilada y secar antes de su uso.
- La mayoría de detergentes destinados a uso del laboratorio contienen agentes quelantes. Trazas de los mismos, como consecuencia de un mal aclarado del material, invalida la determinación.
- Evitar el contacto con partes metálicas.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFÍA

- Miller W.G. Chloride. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1059-1062 and 417.
- Ibbott F.A. et al. New York Academic Press 1965: 101-111.
- Schoenfeld R.G. et al. Clin Chem 1964 (10): 533-539.
- Levinson S.S. et al. In Faulkner VWR et al editors. (9) AACC 1982: 143-148.
- Young D.S. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young D.S. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N.W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref. 1001360 Cont R: 2 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL

