



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA



Carrera Médico Cirujano

Área de Ciencias Biomédicas

Módulos:

La salud del hombre y su ambiente
Crecimiento y desarrollo intrauterino
Parto, puerperio y periodo perinatal
Crecimiento y desarrollo extrauterino

Componente Bioquímica

SGC-FESZ-MC-ML01

Fecha de aprobación por el CAC



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	2 / 140

Revisión: QBI José Luis Rodríguez
DR. Austasio Raúl Altamirano Aceves

DIRECTORIO CARRERA DE MÉDICO CIRUJANO

Dra. Claudia María Mesa Dávila

Jefa de la Carrera.

Dra. Gabriela Vázquez Leyva

Secretaria Técnica.

Dra. Leticia Apiquian Quiroz

Coordinadora del Área de Ciencias Biomédicas.

Dra. Irma Araceli Aburto López

Coordinador del Área de Ciencias de la Salud Pública.

Dr. Miguel Ángel García González.

Coordinador del área de Ciencias Clínicas.

Dra. Laura Olalde Monte de Oca

Coordinadora del Área Terminal Internado y Servicio Social.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	3 / 140

Contenido

Toma de Muestra Sanguínea	5
Osmosis	11
Cromatografía de Aminoácidos	14
Albumina Sérica	20
Amilasa	24
Aspartato amino transferasa (AST/TGO)	28
Alanina amino transferasa (ALT/TGP)	32
Urea	36
Glucosa	41
Deshidrogenasa Láctica (LDH)	46
Triglicéridos	50
Colesterol	54
Bilirrubinas	58
Creatinina	63
Ácido úrico	67
Grupos Sanguíneos	71
Pruebas Cruzadas	75
Determinación cualitativa de la hormona gonadotropina coriónica humana (hCG)	80
Examen General de Orina	82
Fórmula Roja	86
Hemoglobina	86
Hematocrito	91
Índices eritrocíticos	95
Concentración media de hemoglobina corpuscular (CMHC)	95
Hemoglobina corpuscular media (HCM)	98
Volumen corpuscular medio (VCM o MCV)	100
Fosfatasa Alcalina (ALP)	102
Cuantificación de calcio en suero	106



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	4 / 140

Cuantificación de cloro en plasma	109
Fosfatasa Ácida (ACP)	112
<i>Criterios de Evaluación</i>	<i>115</i>
Reglamento General del Laboratorio.....	116
Manejo de Residuos Infecto-Contagiosos.....	117
Anexos.....	121
Anexo 1: Material de Laboratorio.....	121
Anexo 2: Preparación de Soluciones Porcentuales (%).....	127
Anexo 3: Espectrofotómetro	130
Anexo 4: Centrifuga	135
Anexo 5. Valores de referencias.....	139

CONCESIÓN



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	5 / 140

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.
- Determinar la importancia clínica que tiene la toma de muestra sanguínea desde el punto de vista calidad de los resultados obtenido

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 transmitidos por sangre (virus de la hepatitis B, C y virus de la inmunodeficiencia humana HIV).

Los patógenos transmitidos por la sangre pueden entrar al torrente sanguíneo por medio de una lesión accidental con un objeto punzante, 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 debe lavar las manos con agua y jabón entre paciente y paciente y desechar los guantes en cada vez.

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)¹ en la actualidad y deben respetarse el siguiente orden para su obtención:

1. Tubos para hemocultivo
2. Coagulación (e.g. tubos con tapón azul)
3. Suero con o sin activador de coagulación o gel separador de suero (e.g. tubos con rojo, rojo-gris, naranja)
4. Heparina con o sin gel separador de plasma (e.g. tubos con tapón verde)
5. EDTA (e.g. tubos con tapón lila)
6. Inhibidor glucolítico (e.g. tubos con tapón gris)

¹ H01-A6—Tubes and Additives for Venous and Capillary Blood Specimen Collection; Approved Standard—Sixth Edition



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	6 / 140

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:** Jeringas, torundas, masquen tape
- **Reactivos.** No Aplica
- **Equipo.** No Aplica

Servicios. No Aplica

Técnica para la venopunción

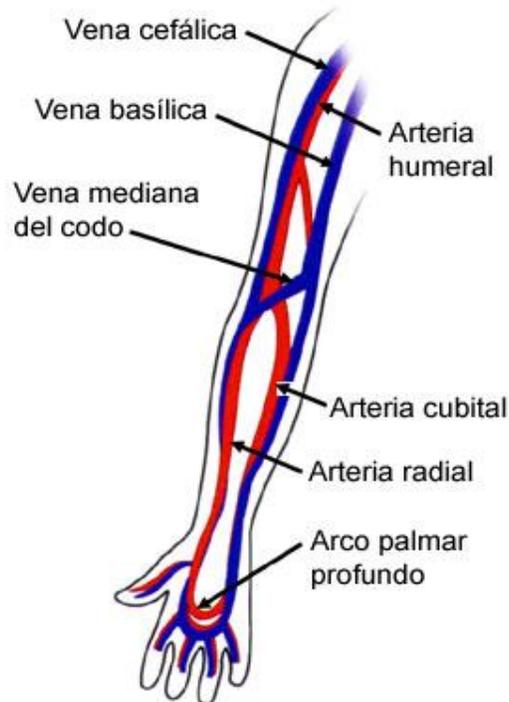
Con Vacutainer

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.

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	7 / 140



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 **yodopovidona al 1%**. 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.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	8 / 140

- 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 halamos el embolo 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

- 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 **yodopovidona al 1%**. 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.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	9 / 140

- 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.*



Para evitar generar más residuos de lo debido, se recomienda, seleccionar el tubo con un volumen mínimo, ya que existen de diversas capacidades como son: 1, 1.8, 2, 2.5, 2.7, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 6, 7, 8, 8.5, 10 y 20 estas capacidades no están disponibles para todos los aditivos, sin embargo los tubos más comunes, los podemos encontrar para volúmenes pequeños.

Requisitos para una muestra de calidad.

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



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	10 / 140

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 recolecto en un momento erróneo.*
- *La muestra se recolecto 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 realiza 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

- *Luis Moran Villatoro., 2001. Obtención de muestras sanguíneas de calidad analítica, México D.F.: Editorial Médica Panamericana.*
- *Manejo de Residuos Biológico-Infecioso (NOM-087, ver anexo)*

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	11 / 140

Osmosis

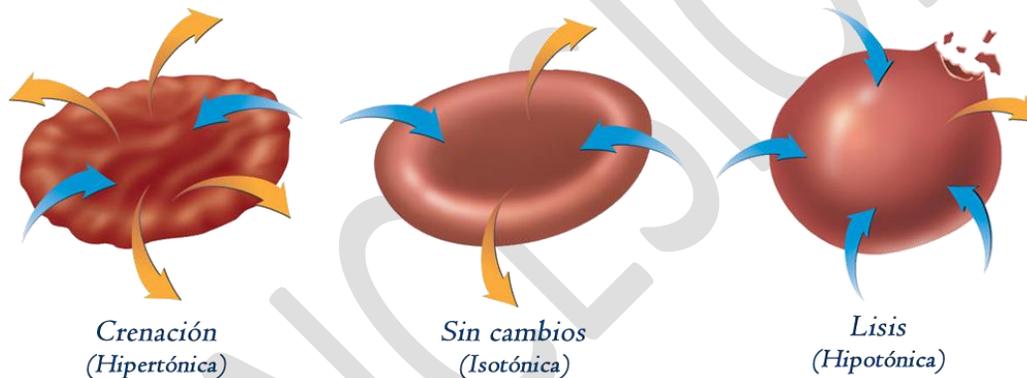
Objetivo

- Observar 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 hemolize, por el contrario se coloca en una solución hipertónica, la célula pierde agua y se crena.



Cambios sufridos en una célula animal en diversas soluciones (Tomado de McKee, T. y McKee, JR)

Material, reactivos y equipo

Material

- 7 Tubos de ensayo 13x100 mm
- 1 Gradilla
- 1 Perilla de succión
- 1 Jeringa y ligadura
- 1 Pipeta Pasteur

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 5 %
- Torundas con alcohol
- Agua destilada
- Portaobjetos y capilares

Equipo.

- Microscopio.
- Centrifuga.

Servicios. No Aplica



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	12 / 140

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 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.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	13 / 140

Cuestionario

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

Referencias

- William F. Ganong., 2004. *Fisiología Médica, México: Manual Moderno.*
- McKee, T, y McKee, JR. 2009. *Bioquímica; Las Bases Moleculares de la Vida. 4.ª ed. México: McGraw-Hill.*



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	14 / 140

Cromatografía de Aminoácidos

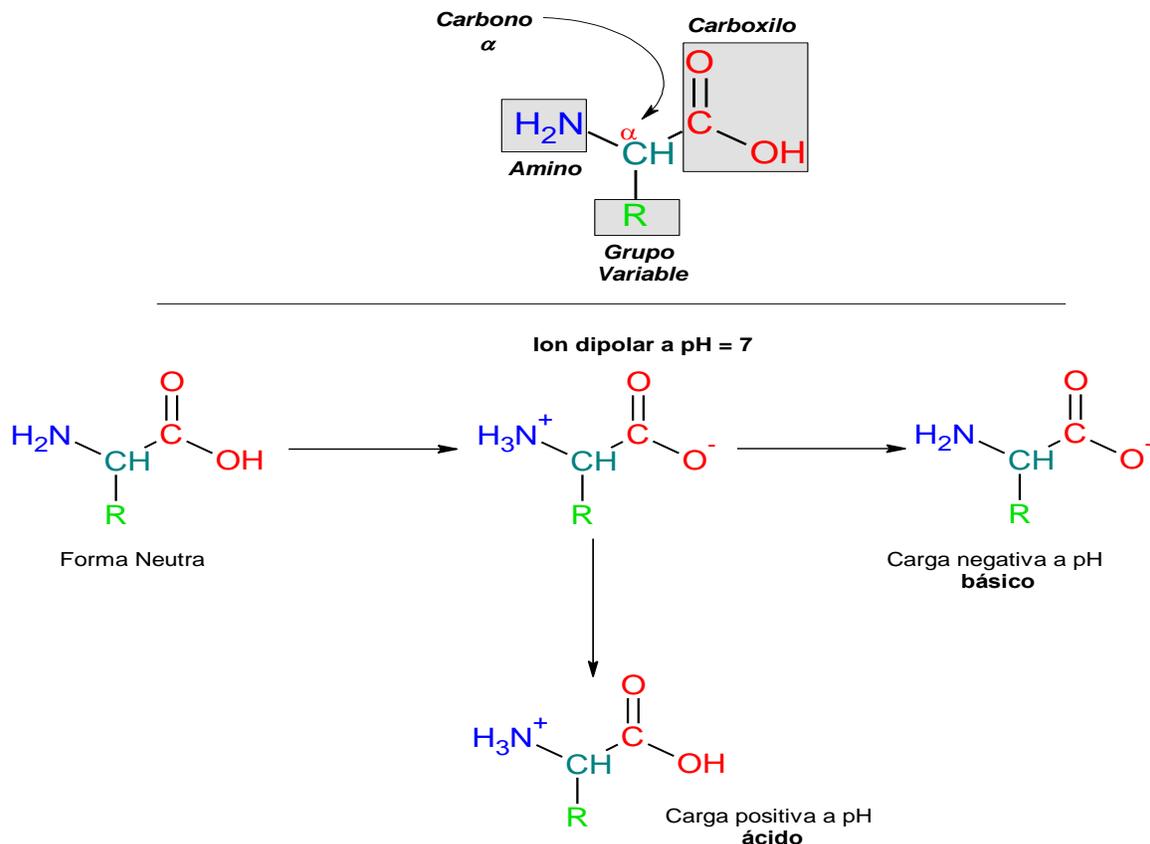
Objetivos

- Aplicar la técnica de la cromatografía en capa fina como método de identificación de aminoácidos presentes en una muestra de orina.
- Interpretar los posibles resultados presentes en una muestra de orina utilizando testigos en una cromatografía en capa fina. Correlacionando el resultado con posibles alteraciones clínico patológicas.

Generalidades

Los **aminoácidos** (AA) son un grupo heterogéneo de moléculas que poseen unas características estructurales y funcionales comunes, y que cumplen diversas funciones como transmisión nerviosa, síntesis de biomoléculas e intermediarios metabólicos. Existen una gran cantidad de aminoácidos, se han identificado alrededor de 300 pero sólo 20 de ellos son comunes en las proteínas de la gran mayoría de los organismos.

Los AA, estructuralmente hablando, constan de un carbono alfa (**α -Carbono**) unido a un grupo amino (**-NH₂**), a un ácido carboxílico (**-COOH**), a un hidrógeno (**H**) y un grupo o cadena **R**.





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	15 / 140

La cadena **R** es de estructura variable y es la responsable de las características particulares de los AA y de su clasificación, en función de ésta podemos agrupar a los 20 aminoácidos, en diversas categorías así mismo, la nomenclatura puede hacerse utilizando un código de tres letras o de una, tal como se observa en la siguiente tabla:

Nombre	Nomenclatura		Clasificación ²
	Tres letras	Una letra	
Alanina	Ala	A	Apolares alifáticos
Glicina	Gly	G	
Isoleucina^{Ae}	Iso	I	
Leucina^{Ae}	Leu	L	
Valinae	Val	V	
Fenilalanina^{Ae}	Phe	F	Apolares aromáticos
Triptófano^{Ae}	Trp	W	
Cisteína	Cys	C	Apolares con azufre
Metionina^{Ae}	Met	M	
Asparagina	Asn	N	Polares alifáticos y sin carga
Glutamina	Gln	Q	
Serina	Ser	S	
Treonina^{Ae}	Thr	T	
Tirosina	Tyr	Y	
Arginina	Arg	R	Polar aromático y sin carga
Histidina^{Ae}	His	H	
Lisinae	Lys	K	Polar con carga positiva
Aspartato	Asp	D	
Glutamato	Glu	E	

Ae = Aminoácido esencial



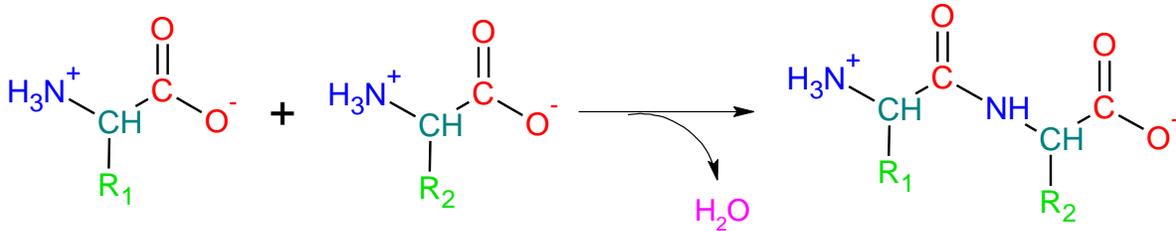
Existe un aminoácido en ciertas proteínas como las **peroxidases** y **reductasas**, que participan en la catálisis de transferencias de electrones, es un tipo de cisteína pero que en lugar de azufre posee selenio, por ello se conoce como **Selenocisteína** o el **vigesimoprimer L-α-aminoácido**

² Existen diversas clasificaciones de los aminoácidos en función de necesidades nutricionales, interacción con el agua, tipo de cadena lateral, etc.

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	16 / 140

Síntesis de proteínas

Para la formación o síntesis de las proteínas, cada AA deberá unirse a otro a través del **grupo amino** del primero al **grupo carboxilo** del segundo, formando así el **enlace peptídico**.



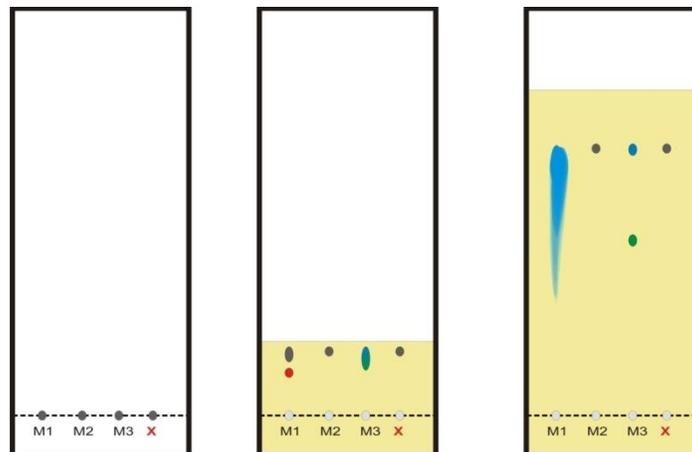
Y estos aminoácidos, los que conforman las proteínas de todos los mamíferos, son enantiómeros de tipo L y tipo Trans, se desconoce por qué la evolución eligió estas características.

Cromatografía de Capa Fina

La **Cromatografía** es una técnica analítica que permite la separación e identificación de los componentes de una mezcla mediante la afinidad de cargas o polaridad, esta técnica puede ser utilizada de manera cualitativa o cuantitativa, requiere de una **fase móvil** o disolvente que desplazará, si existe afinidad, a las sustancias a través de un soporte o **fase estacionaria**, en este caso se trata de sílica gel. A medida que el disolvente se desplace por la fase estacionaria, podrá ir dejando a su paso cada uno de los elementos que conforman la mezcla, esto dependerá de:

- Naturaleza química
- Peso molecular
- Polaridad
- Mezcla del disolvente y proporciones

Habiendo controlado o conociendo lo anterior, podemos utilizar a la cromatografía para identificar una sustancia desconocida o un aminoácido, en este caso. Esto puede entenderse mejor en el siguiente esquema:



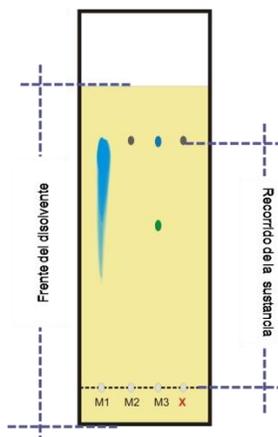


Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	17 / 140

Vemos que si colocamos las muestras M1 a M3 y comparamos con la desconocida X, podemos concluir, al finalizar el proceso, que M2 y X son las mismas sustancias, evidentemente, para poder concluir esto, hace falta comparar el valor del **Factor de Retención (R_f)** con lo reportado en la literatura con el sistema de disolventes y soporte igual al que utilizamos. El valor R_f se calcula con la siguiente fórmula:

Ejemplo:

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



Aunque el término cromatografía denota color, no siempre es evidente a simple vista, por lo que se hace necesario recurrir a reveladores como la **ninhidrina**, y de esta manera poder llevar a cabo la medición.

Material, reactivos y equipo

Material

- Vaselina
- Capilares
- Placa cromatográfica de sílica gel en soporte de aluminio
- Cámara de elusión

Reactivos

- Mezcla Butanol: Ácido acético: Agua (8:2:2)
- Patrones de aminoácidos
- Muestra problema
- Solución de ninhidrina 0.3%

Equipo

- Estufa

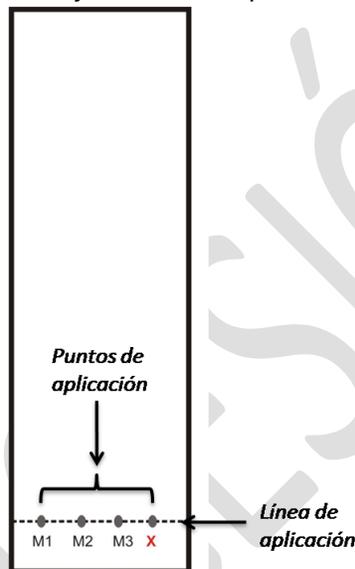


Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	18 / 140

Servicios. No Aplica

Técnica

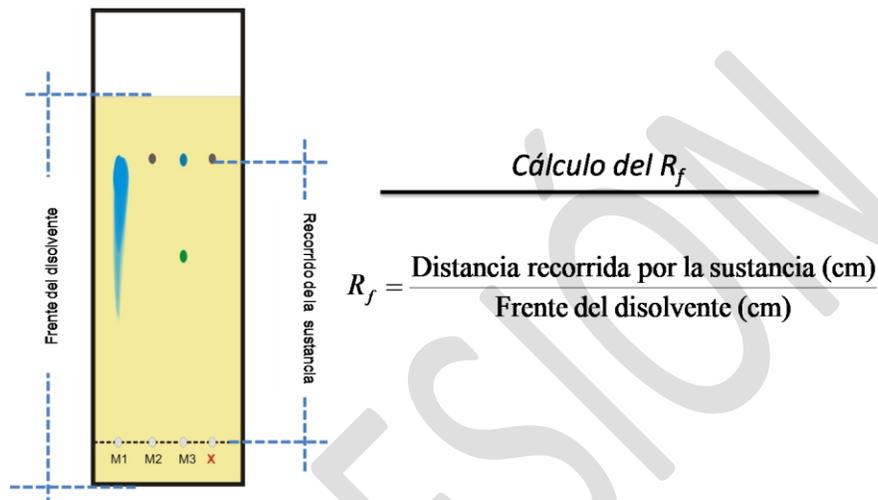
- Calentar la placa cromatográfica de sílica gel en la estufa a 110 grados centígrados por 15 minutos.
- Con la ayuda de una regla y lápiz, dibujar una línea a unos 2 cm de la base sobre la cual se distribuirán 5 marcas, tratando de que quede lo mejor distribuidas pues se colocarán las muestras de aminoácido 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.
- En el quinto punto adicionar la muestra problema.
- Dejar secar al aire.
- Colocar la placa de forma vertical en la cámara cromatográfica y taponarla, 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

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	19 / 140

- Medir la distancia del centro de la mancha al punto de aplicación, esta distancia es el Frente del soluto.
- Calcular el R_f para cada mancha e identificar el aminoácido que existe en la muestra problema.



Resultados

Reportar el factor obtenido y valores de referencia

Cuestionario

1. ¿Cuál es la utilidad clínica de la cromatografía en capa fina?
2. ¿Investiga cuál es el fundamento de la cromatografía en capa fina?
3. Investiga y enlista los R_f de los aminoácidos.
4. Explica por qué se puede separar una mezcla de aminoácido con esta técnica de análisis
- 5.Cuál es el objetivo de la práctica de cromatografía de aminoácidos.

Referencias

- Manzoul, SM, Mohammed, H. *dejáreview Bioquímica*. Editorial El Manual Moderno. México 2010.
- Feduchi, CE; Blasco, CI; Romero, MCS; Yañez, CE. *Bioquímica: Conceptos esenciales*. Editorial Médica Panamericana. España 2011.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	20 / 140

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.

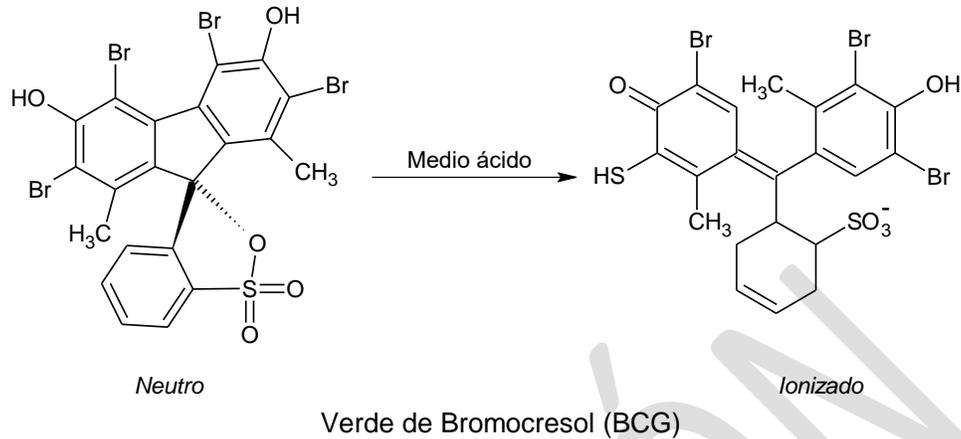
Otra función importante es su capacidad para unirse a diversos ligandos, como los ácidos grasos libres, calcio, ciertas hormonas esteroideas, bilirrubina y parte del triptófano plasmático. Diversos fármacos, como las sulfonamidas, penicilina G, dicumarol y aspirina. Desempeña una función importante en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

Principio de la reacción

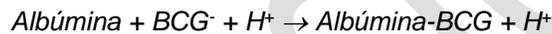
Principio de la Reacción

Este procedimiento está basado en las propiedades de la albúmina sérica de copularse con el verde de bromocresol a pH ligeramente ácido produciendo un cambio de color del indicador, de amarillo verdoso a verde azulado.

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	21 / 140



En la reacción el BCG ionizado se une a la porción positiva de la albúmina y forma el complejo colorido Albúmina-BCG



La absorbancia del verde de bromocresol a 630 nm se incrementa al unirse con la albúmina y es proporcional a la concentración de albúmina presente en plasma.

Fuentes de error

- Suero o plasma hemolizado.
- La reacción de la albúmina con el verde de bromocresol es inmediata. Se recomienda no demorar las lecturas, ya que otras proteínas reaccionan lentamente.

Material, reactivos y equipo

Material.

- Muestra de Suero o plasma libre de hemolisis
- Anticoagulante EDTA 5 %

Reactivos

Reactivo de trabajo	Verde de bromocresol pH=4.2 0.12 mmol/L
Patrón	Patrón de Albúmina 5 g/L

Equipo

- Espectrofotómetro
- Cubetas de 1 cm de paso de luz
- Pipeta automática de 100 µl

Servicios: No aplica



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	22 / 140

Técnica

1.-Pipetear en una cubeta

	Blanco	Patrón	Muestra
Reactivo de trabajo (ml)	1.0	1.0	1.0
Patrón (µl)		5	
Muestra (µl)			5

2.-Mezclar e incubar 10 minutos a temperatura ambiente.

3.-Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra a 630 nm frente al blanco de reactivo. El color es estable 1 hora a temperatura ambiente.

4.-Calculos:

$$\text{Albumina} = \frac{AM}{AP} \times 5 = \text{mg/dL}$$

AM = Absorbancia de la muestra

AP = Absorbancia del patrón

5 = Concentración del patrón en mg/dL

Resultados

Interpretación del resultado obtenido

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



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	23 / 140

Referencias

- Robert K. Murray., 2010. *Bioquímica ilustrada*, México, D.F.: McGraw Hill.
- David L. Nelson, Michael M. Cox.2009. *Principios de bioquímica*, México, D.F. OMEGA
- William F. Ganong.2004. *Fisiología*, México D.F.; Manual Moderno.

CONCESIÓN



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	24 / 140

Amilasa

Objetivos:

- *Determinar cuantitativamente la concentración de la enzima α -amilasa en suero o plasma.*
- *Interpretar los resultados obtenidos relacionándolos con las patologías más comunes, de acuerdo a los valores de referencia.*

Generalidades

La amilasa es una enzima que cambia al almidón en azúcar, y es producida en las glándulas salivales, páncreas, hígado y trompas de Falopio. Cuando el páncreas o las glándulas salivales se inflaman, entra una gran cantidad de amilasa en la sangre. Los niveles de amilasa en orina reflejan los cambios en la sangre con un retraso de 6 a 10 horas. La lipasa convierte las grasas en ácidos grasos y glicerol. El páncreas constituye la principal fuente de esta enzima. La lipasa aparece en la sangre cuando hay daño pancreático.

Las pruebas de amilasa y lipasa se utilizan para diagnosticar y vigilar el tratamiento de la pancreatitis aguda y para diferenciar esta última de otras alteraciones abdominales agudas; 80% de los pacientes con pancreatitis aguda padece con amilasa y lipasa elevadas. La prueba de la lipasa es útil en el diagnóstico tardío de pancreatitis cuando la amilasa puede haberse normalizado.

Significado Clínico.

La amilasa se eleva en:

- *Al principio de la pancreatitis aguda la amilasa se eleva considerablemente. Empieza a elevarse entre 3 y 6 horas después de que comienza el dolor*
- *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*
 - Hepatitis, hepatopatía grave*
 - Fibrosis quística avanzada*
 - Toxemia del embarazo*
 - Quemaduras extensas*
 - Tirotoxicosis grave*



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	25 / 140

- La lipasa se eleva cuando hay alteraciones pancreáticas (pancreatitis y carcinoma pancreático). En ocasiones la lipasa no aumenta sino hasta 24 hrs. Después de que comienza la enfermedad y permanece alta hasta 14 días. La elevación de la lipasa es posterior y persiste durante más tiempo que la de amilasa.
- La lipasa elevada también se relaciona con:
 - a. Colecistitis
 - b. Nefropatía grave
 - c. Intestino estrangulado o impactado
 - d. peritonitis

Aviso Clínico

Los valores anormales (preocupantes) de lipasa son mayores de 600UI/L

Principio de la reacción

La α -amilasa hidroliza el 2-cloro-4-nitrofenil- α -D-maltotriosido (CNP₃) a 2-cloro-4-nitrofenol (CNP) y forma 2-cloro-4-nitrofenil- α -D-maltoside (CNP₂), 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 ensayada

Fuentes de error

Pueden ser causa de interferencia:

1. Los sueros hemolizados
2. Sueros lipémicos

Materiales, reactivos y equipo

Materiales

- Suero o plasma separado lo antes posible de los hematíes
- Anticoagulante heparina

Reactivos (Spinreact)

Reactivos	MES pH 6	100 mmol/L
	CNPG ₃	2.25 mmol/L
	Cloruro Sódico	350 mmol/L
	Acetato cálcico	6 mmol/L
	Tiocianato potásico	900 mmol/L
	Acida Sódica	0.95 g/L



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	26 / 140

Equipo

- Espectrofotómetro
- Estufa a 37 °C
- Celdas de 1cm paso de luz
- Pipeta automática 100 µl

Servicios. No Aplica

Técnica (Spinreact)

1.- Condiciones de ensayo

Longitud de onda405 nm

Temperatura 37°C

2.- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada

3.-Pipetear en una cubeta

	Suero o plasma
Reactivo (mL)	1.0
Muestra (µl)	20

4.- Mezclar

5.- Leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos

6.- Calcular el $\Delta A/ \text{min}$

Cálculos:

$$\Delta A/ \text{min} \times 3954 = U/L \text{ AMS}$$

Valores de referencia

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

Rangos de referencia.

Los valores de referencia varían de acuerdo a:

- a) La edad del paciente
- b) Etapa fisiológica de la vida
- c) Alimentación
- d) Sexo
- e) Actividad física
- f) Reactivos de laboratorio (kit de reactivos)



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	27 / 140

Lo ideal es que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia de acuerdo a la población que atiende.

Amilasa	Lipasa
Recién nacido	Adultos
6 – 65 U/L	10 – 140 U/L
Adultos	Personas de más 60 AÑOS
25 – 125 U/L	18 – 180U/L
Ancianos	
21 – 160 U/L	

Resultados

Interpretar los resultados obtenidos relacionándolos con patologías pancreáticas y hepáticas.

Cuestionario

- Explica la fisiopatología de la amilasa en las siguientes enfermedades:
 - Pancreatitis
 - Parotiditis
- Explica la fisiopatología de la amilasa en las siguientes enfermedades:
 - Hepatitis
 - Toxemia del embarazo
- Explica cuál es la relación diagnóstica que existe entre amilasa y lipasa
- Explica porque el EDTA interfiere en la determinación de la amilasa
- Explica en qué casos es aconsejable realizar la determinación de amilasa y lipasa pancreática

Referencias

- Jacques Wallach; 2002; Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio; Barcelona, Editorial: Masson
- Kolman-Ohm; 2004; Bioquímica texto y atlas; Buenos Aires Argentina, Editorial: Panamericana
- Thomas M. Devlin; 2007 Bioquímica texto y aplicaciones clínicas, España; Editorial: Reverté, S. A.
- Guillermo Ruíz Reyes; 2004; Fundamentos de interpretación Clínica de los exámenes de Laboratorio; México; Editorial Médica Panamericana.
- Michael L. Bishop; 2007; Química Clínica principios, procedimientos y correlaciones; México; Editorial: Mc. Graw Hill.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	28 / 140

Aspartato amino transferasa (AST/TGO)

Objetivos:

- *Determinar cuantitativamente la concentración de la enzima Aspartato aminotransferasa (AST) en suero o plasma.*
- *Interpretar los resultados obtenidos relacionándolos con las patologías más comunes, de acuerdo a los valores de referencia.*

Generalidades

La AST es una enzima con gran actividad metabólica que existe en diferentes tejidos, cuya concentración es menor en el hígado, corazón, músculo esquelético, riñón, cerebro, páncreas, bazo y pulmones. Esta enzima es liberada a la circulación cuando hay lesión o muerte celular. Cualquier enfermedad que provoque cambios en estos tejidos altamente metabólicos resultara en una elevación de la AST. La cantidad de AST en la sangre es directamente proporcional al número de células lesionadas y a la cantidad de tiempo que haya transcurrido entre la lesión y la prueba. Después de una lesión celular grave, la AST sanguínea se eleva después de las 12 horas siguientes y permanece así durante 5 días.

Esta prueba se utiliza para valorar enfermedades hepáticas y cardíacas.

Significado Clínico

- *La AST se eleva en el infarto del miocardio:*
- *En el infarto al miocardio, el nivel de AST puede ser de 4 a 10 veces mayor que lo normal*
- *El nivel de AST alcanza un pico máximo en 24 horas y se normaliza entre 3 y 4 días*
- *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*
 - Traumatismo cerebral*
 - Lesiones por aplastamiento*
 - Distrofia muscular progresiva*
 - Embolia pulmonar*
 - Gangrena*
 - Hipertermia maligna*
 - Intoxicación por hongos*
- *La AST disminuye en*

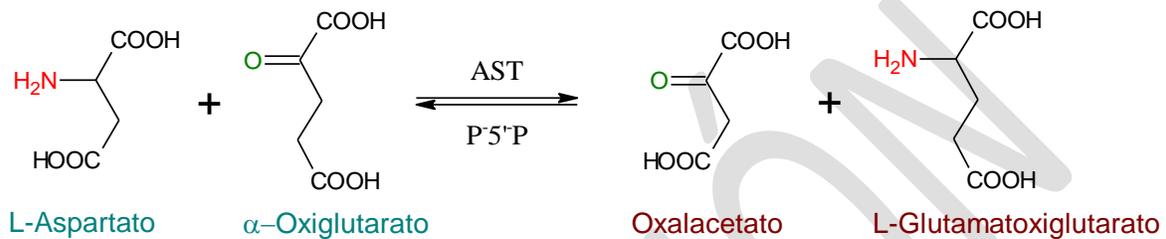


Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	29 / 140

- Hiperazoemia
- Diálisis renal crónica

Principio de la reacción

La aspartato aminotransferasa 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 ensayada

Material, reactivos y equipo

Material

- Suero o plasma
- Anticoagulante EDTA 5 %

Reactivos

Reactivo 1	TRIS pH7.8	80 mmol/L
Tampón	L-Aspartato	200 mmol/L
Reactivo 2	NADH	0.18 mmol/L
Sustrato	Lactato deshidrogenasa (LDH)	800 U/L
	Malato deshidrogenasa (MDH)	600 U/L
	α -Cetoglutarato	12 mmol/L

Equipo

- Espectrofotómetro
- Estufa a 37 °C
- Celdas de 1cm paso de luz
- Pipeta automática de 100 μ l

Servicios. No aplica



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	30 / 140

Técnica

1.- Condiciones de ensayo

Longitud de onda340 nm

Temperatura constante 25°C

2.- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada

3.-Pipetear en una cubeta

Reactivo de trabajo (mL)	1.0
Muestra (µl)	100

4. Mezclar, y leer al minuto 1, 2 y 3

5. Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$)

Cálculos

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

Valores de Referencia

25°C

Hombres Hasta 19 U/L

Mujeres Hasta 16 U/L

Fuentes de error.

1. La AST puede disminuir ligeramente durante el embarazo, o cuando existe metabolismo anormal de la piridoxina
2. Muchos medicamentos pueden aumentar la AST; los salicilatos la elevan o la reducen y la ingestión de alcohol también la altera.

Rangos de referencia.

Los valores de referencia varían de acuerdo a:

- a) La edad del paciente
- b) Etapa fisiológica de la vida
- c) Alimentación
- d) Sexo
- e) Actividad física
- f) Reactivos de laboratorio (kit de reactivos)



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	31 / 140

Lo ideal es que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia de acuerdo a la población que atiende.

Edad	U/L
0 A 5 DÍAS	35 A 140
6 DÍAS A 3 AÑOS	20 A 60
3 A 6 AÑOS	15 A 50
6 A 12 AÑOS	10 A 50
12 A 18 AÑOS	10 A 40
ADULTOS	5 A 40

Resultados

Interpretación del resultado relacionándolo con patologías cardíacas y hepáticas

Cuestionario.

1. Investiga la fisiopatología de la AST en las siguientes enfermedades:
 - a. Infarto agudo al miocardio
 - b. Hepatitis aguda
 - c. Hiperazoemia
2. Explica de qué manera la AST disminuye ligeramente en:
 - a. Embarazo
 - b. Metabolismo anormal de la piridoxina
3. Investiga en cuanto tiempo se eleva la AST después del infarto agudo al miocardio
4. Investiga en cuanto tiempo se normaliza la AST después de infarto al miocardio
5. Enlista las enzimas que apoyan al diagnóstico del infarto al miocardio

Referencias

- Jacques Wallach; 2002; Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio; Barcelona, Editorial: Masson
- Kolman – Ohm; 2004; Bioquímica texto y atlas; Buenos Aires Argentina, Editorial: Panamericana
- Guillermo Ruíz Reyes; 2004; Fundamentos de interpretación Clínica de los exámenes de Laboratorio; México; Editorial Médica Panamericana.
- Michael L. Bishop; 2007; Química Clínica principios, procedimientos y correlaciones; México; Editorial: Mc. Graw Hill.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	32 / 140

Alanina amino transferasa (ALT/TGP)

Objetivos:

- Determinar cuantitativamente la concentración de la enzima alanina aminotransferasa (ALT) en plasma o suero.
- Interpretar los resultados obtenidos relacionándolos con las patologías más comunes, de acuerdo a los valores de referencia.

Generalidades

La enzima ALT, antes denominada **Transaminasa Glutámico Pirúvica, TGP**) tiene una concentración muy elevada en el hígado, mientras que en el corazón, el músculo y el riñón la concentración es relativamente baja.

Esta prueba se utiliza principalmente para diagnosticar hepatopatías y para vigilar la evolución del tratamiento de la hepatitis, cirrosis postnecrótica activa y los efectos del tratamiento medicamentoso. La ALT también ayuda a distinguir entre ictericia hemolítica e ictericia producida por problemas hepáticos.

Significado Clínico

El nivel de ALT se eleva en:

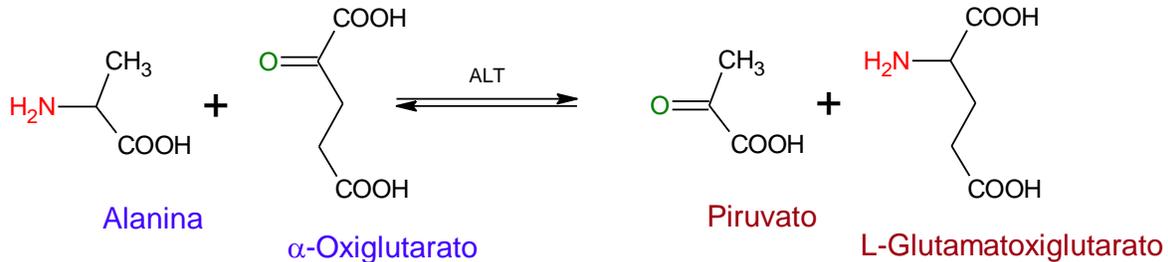
- Enfermedad hepatocelular (elevación de moderada a alta)
- Cirrosis activa (elevación leve)
- Tumor hepático metastásico (elevación leve)
- Ictericia obstructiva biliar (elevación leve a moderada)
- Hepatitis viral, infecciosa o tóxica (30 a 50 veces el valor mayor del valor de referencia)
- Mononucleosis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

Principio de la reacción

La alanina aminotransferasa 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:



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	33 / 140



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 ensayada.

Fuentes de error

1. Muchos medicamentos pueden producir elevación artificial de la ALT
2. Los salicilatos pueden disminuir o aumentar los niveles de ALT

Aviso Clínico

1. Existe cierta correlación entre la ALT sérica elevada y la presencia de anticuerpos anormales contra el antígeno central del virus de la hepatitis B.
2. Los individuos con elevación de ALT no deben donar sangre.

Material, reactivos y equipo.

Material

- Material
- Suero o plasma
- Anticoagulante EDTA 5 %

Reactivos

Reactivo 1	TRIS pH 7.8	100 mmol/L
Tampón	L-Alanina	500 mmol/L
Reactivo 2	NADH	0.18 mmol/L
Sustrato	Lactato deshidrogenasa (LDH)	1200 U/L
	α -Cetoglutarato	15 mmol/L

Equipo

- Espectrofotómetro
- Estufa a 37 °C
- Celdas de 1cm paso de luz
- Pipeta automática de 100 μ l



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	34 / 140

Servicios. No aplica

Técnica

1. Condiciones de ensayo

Longitud de onda340 nm

Temperatura constante 37°C

2.- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada

3.-Pipetear en una cubeta

Reactivo de trabajo (mL)	1.0
Muestra (µL)	100

4. Mezclar, y leer al minuto, a los 2 y 3 minutos

5. Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto ($\Delta A/min$)

Cálculos

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

Valores de Referencia

25° C

Hombres Hasta 22 U/L

Mujeres Hasta 18 U/L

Rangos de referencia

Los valores de referencia varían de acuerdo a:

- La edad del paciente
- Etapas fisiológicas de la vida
- Alimentación
- Sexo
- Actividad física
- Reactivos de laboratorio (kit de reactivos)

Lo ideal es que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia de acuerdo a la población que atiende.

Adultos	7 A 56 U/L
Niños	10 A 35 U/L
Neonatos	6 A 50 U/L



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	35 / 140

Resultados.

Interpretación del resultado obtenido relacionándolo con patología hepática y cardiaca

Cuestionario.

1. Investiga la fisiopatología de la ALT en las siguientes enfermedades:
 - a. Hepatitis viral infecciosa
 - b. Ictericia biliar obstructiva
 - c. Infarto agudo al miocardio
2. Explica cuál es la razón por la cual los pacientes con elevación de ALT no deben donar sangre
3. Explica cuál es la relación que existe entre ALT/AST en el infarto agudo al miocardio
4. Investiga que ictericias nos permite distinguir la ALT
5. Investiga que es y cuál es su utilidad diagnóstica del índice de RITIS

Referencias

- Jacques Wallach; 2002; Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio; Barcelona, Editorial: Masson
- Kolman – Ohm; 2004; Bioquímica texto y atlas; Buenos Aires Argentina, Editorial: Panamericana
- Thomas M. Devlin; 2007 Bioquímica texto y aplicaciones clínicas, España; Editorial: Reverté, S. A.
- Guillermo Ruíz Reyes; 2004; Fundamentos de interpretación Clínica de los exámenes de Laboratorio; México; Editorial Médica Panamericana.
- Michael L. Bishop; 2007; Química Clínica principios, procedimientos y correlaciones; México; Editorial: Mc. Graw Hill.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	36 / 140

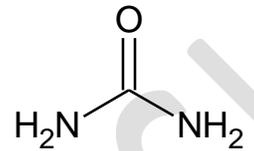
Urea

Objetivos:

- Determinar cuantitativamente la concentración de urea en sangre periférica.
- 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 CO_2 , 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

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**). Se cuantifica mediante una prueba espectrofotométrica cinética.

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:**
 - a. Deterioro de la función renal
 - b. Insuficiencia cardíaca congestiva
 - c. Depleción de sal y agua
 - d. Shock
 - e. Hemorragia gastrointestinal
 - f. Infarto agudo de miocardio
 - g. Tensión
 - h. Ingestión excesiva de proteínas o catabolismo proteico



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	37 / 140

• **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)

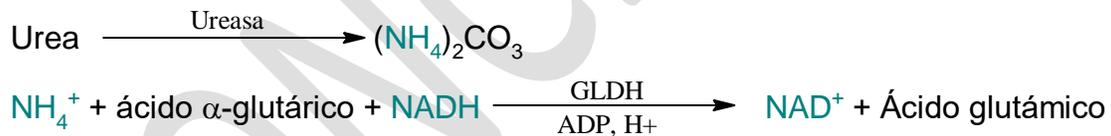
Principio de la reacción

Existen dos métodos utilizados para la determinación de urea:

Enzimático acoplado

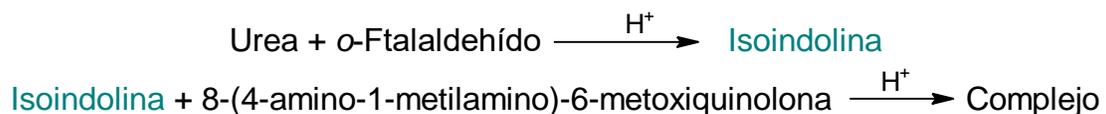
Este método es muy específico y rápido, tiene como característica que se utiliza una serie de enzimas como la ureasa y el glutamato deshidrogenasa (GLDH) además de ser:

- Cuantitativo
- Punto final
- Cinético



o-Ftaldehído

Es una técnica química colorimétrica, comparada con la anterior es menos frecuente por la cantidad de interferencias en los resultados, por ejemplo compuestos con aminas primarias.





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	38 / 140

Interferencias.

1. Se puede reducir el nivel del BUN si se combina una dieta con pocas proteínas y abundantes carbohidratos.
2. El BUN normalmente es bajo en niños y mujeres debido a que su masa muscular es menor que la del varón adulto.
3. Al final del embarazo y durante la lactancia el BUN se eleva ya que aumenta el uso de proteínas.
4. Los ancianos pueden padecer de BUN elevado cuando su riñón no concentra la orina de manera adecuada.

Fuentes de error.

5. Se puede reducir el nivel del BUN si se combina una dieta con pocas proteínas y abundantes carbohidratos.
6. El BUN normalmente es bajo en niños y mujeres debido a que su masa muscular es menor que la del varón adulto.
7. Al final del embarazo y durante la lactancia el BUN se eleva ya que aumenta el uso de proteínas.
8. Los ancianos pueden padecer de BUN elevado cuando su riñón no concentra la orina de manera adecuada.
9. Al principio del embarazo el BUN puede disminuir también por hidremia fisiológica.
10. Muchos medicamentos elevan o reducen el nivel de BUN.

Aviso Clínico

1. Si un paciente se encuentra confuso, desorientado o con convulsiones, se debe de verificar el BUN, ya que su elevación puede explicar los síntomas.
2. El valor pánico del BUN es mayor de 100 mg/mL.
3. En la nefropatía crónica, el BUN se correlaciona mejor con los síntomas de uremia que la creatinina sérica.

Material, reactivos y equipo.

Material

Suero o plasma heparinizado
Anticoagulante heparina

Reactivos

Reactivo 1	o-ftalaldehido	4.8 mmol/L
Reactivo 2	Solución borato	87 mmol/L
	Ácido sulfúrico	3 mol/L
UREA CAL.	Patrón primario acuoso de Urea	50 mg/dL



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	39 / 140

Equipo

Espectrofotómetro

Estufa a 37 °C

Celdas de 1cm de paso de luz

Micropipeta de 100 µl

Servicios. No aplica

Técnica

(Cinética)

1. Condiciones de ensayo

Longitud de onda 510 nm

Temperatura 37°C

2.- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada

3.-Pipetear en una cubeta

	Blanco	Patrón	Muestra
Reactivo 1 (ml)	1.0	1.0	1.0
Patrón (µL)	-	50	-
Muestra (µL)			50

4.-Mezclar e incubar 1 minuto y añadir

Reactivo 2 (mL)	1.0	1.0	1.0
-----------------	-----	-----	-----

5.-Mezclar, leer las absorbancias al minuto (A_1) y a los 2 minutos (A_2)

6.-Calcular el incremento de la absorbancia $\Delta A = A_2 - A_1$

Cálculos

$$\frac{(\Delta A)_{\text{Muestra}}}{(\Delta A)_{\text{Patrón}}} \times 50 = \text{mg/dL de urea en la muestra}$$

Rangos de Referencia

Los valores de referencia varían de acuerdo a:

- La edad del paciente
- Etapa fisiológica de la vida
- Alimentación
- Sexo
- Actividad física
- Reactivos de laboratorio (kit de reactivos)



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	40 / 140

Lo ideal es que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia de acuerdo a la población que atiende.

Edad	Unidades mg/dL	Unidades mmol/L
Adultos	7 -18	2.5 – 6.4
< De 60 años	8 – 20	2.9 – 7.5
Niños	5 - 18	1.8 – 6.4

Resultados

Interpretar el resultado obtenido

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. Explica porque la determinación del BUN es más confiable que la determinación de la urea.
4. Explica porque el BUN es más bajo en niños y mujeres.
5. Enlista 5 medicamentos que elevan el BUN y explica de qué forma interfieren.
6. Enlista tres patologías que produzcan falsos positivos y tres patologías que produzcan falsos negativos.

Referencias

- Jacques Wallach; 2002; Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio; Barcelona, Editorial: Masson
- Kolman – Ohm; 2004; Bioquímica texto y atlas; Buenos Aires Argentina, Editorial: Panamericana
- Thomas M. Devlin; 2007 Bioquímica texto y aplicaciones clínicas, España; Editorial: Reverté, S. A.
- Guillermo Ruíz Reyes; 2004; Fundamentos de interpretación Clínica de los exámenes de Laboratorio; México; Editorial Médica Panamericana.
- Michael L. Bishop; 2007; Química Clínica principios, procedimientos y correlaciones; México; Editorial: Mc. Graw Hill.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	41 / 140

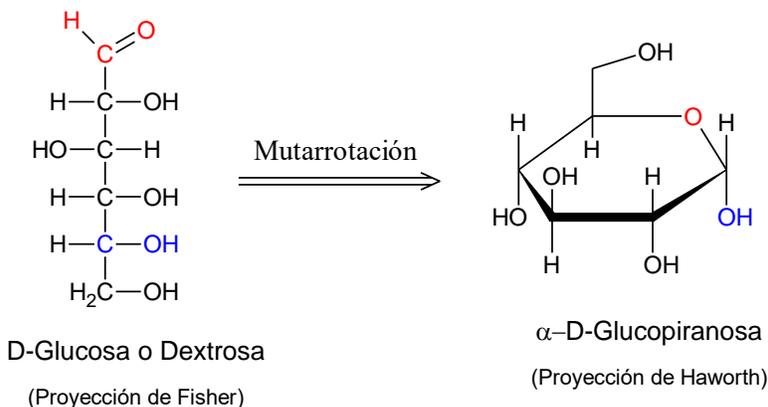
Glucosa

Objetivos

- Determinar cuantitativamente la concentración de glucosa sanguínea
- Establecer un diagnóstico diferencial entre intolerancia a los carbohidratos y diabetes mellitus.
- Describir la importancia clínica de la glucosa postprandial y hemoglobina glucosilada.

Generalidades

El metabolismo de los hidratos de carbono es una de 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**, polisacárido de reserva energética a corto plazo en los animales. Es de gran importancia para mantener un correcto estatus energético en el organismo, especialmente en músculo e hígado. La **glucogenólisis** comprende las reacciones de degradación del glucógeno para la formación de glucosa, mientras que en un exceso de ésta, se echa andar las reacciones inversas que en conjunto reciben el nombre de **glucogenogénesis**.
- La ruta relacionada con la degradación total de la glucosa hasta la obtención de ATP mediante la **glucólisis**.
- 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.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	42 / 140

- Como intermediario metabólico, el **piruvato** juega un papel fundamental en las rutas catabólicas como la **fermentación** y la **descarboxilación oxidativa**.

Principio de la Reacción

Los procedimientos se clasifican en químicos y enzimáticos. Los métodos enzimáticos son los más utilizados por ser más específicos, mientras que las técnicas químicas ya no se utilizan por requerir más tiempo, volumen de muestra, son más complicadas y carecen de especificidad.

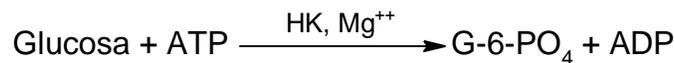
Dentro de los métodos químicos se tienen:

- **Folin-Wu**: donde existe una reducción de sales de cobre.
- **Somogy-Nelson**: reducción de arsenomolibdato
- **Orto toluidina (o-toluidina)**: Condensación con el aldehído de las aldohexosas

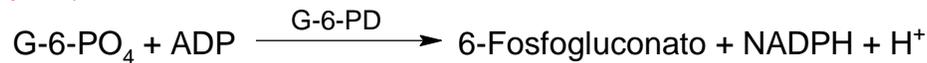
Dentro de las técnicas enzimáticas se tienen:

- **Hexocinasa**: Método de referencia con muestras desproteinizadas lo que la hace un método no rutinario.

Etapa 1)



Etapa 2)

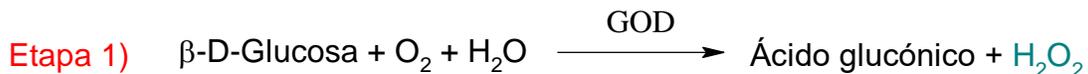


HK = Hexoquinasa

G-6-PD = Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa

- **Glucosaoxidasa**: Método de rutina

La cuantificación de la glucosa puede efectuarse por diversos métodos, sin embargo la reacción de la Glucosa Oxidasa (GOD) es la más común.



GOD = Glucosaoxidasa

POD = Peroxidasa



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	43 / 140

Material, reactivos y equipo**Material**

Suero o plasma libre de hemólisis
Anticoagulante EDTA 5 %

Reactivos

Reactivo 1 Tampón	TRIS Ph7.4 Fenol	92 mmol 0.3mmol/L
Reactivo 2 enzimas	Glucosa oxidasa (GOD) Peroxidasa (POD) 4-aminofenazona(4-AF)	15000U/L 1000U/L 2.6mmol/L
Glucosa calibrador	Patrón primario acuoso de glucosa	100mg/dl.

Equipo

Espectrofotómetro
Estufa a 37 °C
Celdas de 1cm de paso de luz
Pipeta automática de 100 µl

Servicios. No aplica

Técnica
(Cinética)

1.-Condiciones de ensayo

Longitud de onda 510 nm
Temperatura 37°C

2.- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada

3.-Pipetear en una cubeta

	Blanco	Patrón	Muestra
Reactivo de trabajo (ml)	1.0	1.0	1.0
Patrón (µL)	-	10	-
Muestra (µL)	-	-	10

4.-Mezclar e incubar 10 minutos a 37° grados o 15-20 minutos a temperatura ambiente (15-25°C)

5.-Leer la absorbancia(A) del patrón y la muestra frente al blanco del reactivo .El color es estable como mínimo 30 minutos.

$$\text{(A) Muestra} \times 100(\text{conc. Patrón}) = \text{mg/dl de glucosa en la muestra}$$
$$\text{(A) patrón}$$

Rangos de referencia

Glucosa = 60-100 mg/dl



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	44 / 140

De acuerdo a la modificación de la NOM-015-SSA2-2010, Para la prevención, tratamiento y control de **diabetes mellitus**, se debe considerar los siguientes puntos antes de establecer un diagnóstico de **Diabetes**.

- Se establece el diagnóstico de **diabetes**, si cumple 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 pos 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 pos 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 ³	< 25	25-27	> 27
HbA1c ⁴	$< 6.5\%$ mg/dl	6.5-8%mg/dl	$> 8\%$ mg/dl

³ Índice de Masa Corporal

⁴ Hemoglobina Glucosilada



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	45 / 140

Resultados

Interpretar el resultado obtenido.

Cuestionario

1. Indicar las causas de hipoglucemia.
2. ¿Cuáles son las diferencias entre la diabetes tipo I y II?
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

- EducaRed, 2009. Animación: visión general de la oxidación de la glucosa - Wikillerato. EducaRed Fundación Telefónica. Disponible en: http://www.educared.org/wikiEducared/index.php?title=Animaci%C3%B3n:_visi%C3%B3n_general_de_la_oxidaci%C3%B3n_de_la_glucosa [Accedido marzo 18, 2012] [URL acortada: <http://goo.gl/KsBt5>]
- Feduchi, CE; Blasco, CI; Romero, MCS; Yañez, CE. Bioquímica: Conceptos esenciales. Editorial Médica Panamericana. España 2011.
- Secretaría de Salud, 1999. Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-1994, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/m015ssa24.html> [Accedido marzo 19, 2012].



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	46 / 140

Deshidrogenasa Láctica (LDH)

Objetivos:

- *Determinar cuantitativamente la concentración de la enzima deshidrogenasa láctica.*
- *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

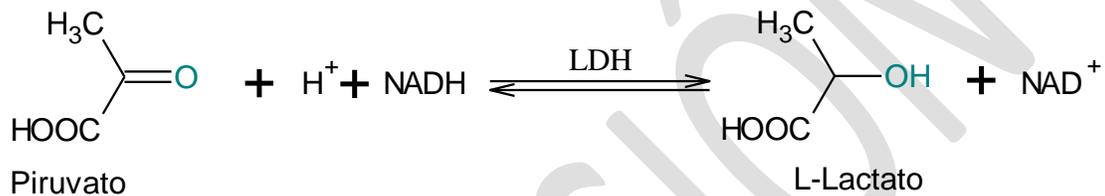
- *La LDH se eleva en el infarto al miocardio 36 a 55 h. Después del infarto se eleva la cifra, que continua durante un tiempo más prolongado que la AST (GOT) o CPK (de tres a diez días). Mediante las isoenzimas de LDH se puede hacer diagnóstico diferencial de infarto agudo de miocardio.*
- *En infarto 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.*



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	47 / 140

- 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

Principio de la Reacción



Fuentes de error

1. Tanto el ejercicio extenuante como el ejercicio muscular del parto elevan la LDH.
2. Las enfermedades de la piel pueden provocar elevaciones falsas
3. La hemólisis producida por la congelación, calentamiento o agitación de la muestra provocan elevaciones falsas.
4. Algunos medicamentos pueden provocar elevación y reducción falsa.

Material, reactivos y equipo

Material

Suero sanguíneo separado lo antes posible de los hematíes.
Anticoagulante EDTA 5%

Reactivos

Reactivo 1	Fosfato pH 7.8	50 mmol/L
Tampón	Piruvato	0.6 mmol/L
Reactivo 2	NADH	0.18 mmol/L
Sustrato		



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	48 / 140

Equipo

Espectrofotómetro
Estufa a 25° C/ 37 °C
Celdas de 1cm de paso de luz
Pipeta automática de 100 µl

Servicios. No aplica

Técnica

- 1.- Condiciones de ensayo
Longitud de onda 340 nm
Temperatura 37°C
- 2.- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada
- 3.- Pipetear en una cubeta

	25°C	37°C
Reactivo de trabajo (mL)	3.0	3.0
Muestra (µL)	100	50

- 4.- Mezclar y leer la absorbancia a 1, 2, y 3 minutos
- 5.- Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$)

Cálculos

25 ° C $\Delta A/\text{min} \times 4925 = \text{U/L LDH}$
37° C $\Delta A/\text{min} \times 9690 = \text{U/L LDH}$

Aviso Clínico

Prácticamente en todos los tejidos del organismo existe LDH. Por lo tanto, su elevación tiene muy poco valor diagnóstico por sí sola. Sin embargo se puede hacer un diagnóstico diferencial si se cuantifican la isoenzimas.

Rangos de Referencia

Los valores de referencia varían de acuerdo a:

- a) La edad del paciente
- b) Etapa fisiológica de la vida
- c) Alimentación
- d) Sexo
- e) Actividad física
- f) Reactivos de laboratorio (kit de reactivos)



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	49 / 140

Lo ideal es que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia de acuerdo a la población que atiende.

Edad	U/L
0 A 5 Años	425 a 975
5 A 12 Años	370 a 840
12 A 14 Años	370 a 785
14 A 16 Años	370 a 645
Adultos	313 a 618

Resultados

Interpretar el resultado obtenido

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

- Jacques Wallach; 2002; Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio; Barcelona, Editorial: Masson
- Kolman – Ohm; 2004; Bioquímica texto y atlas; Buenos Aires Argentina, Editorial: Panamericana
- Thomas M. Devlin; 2007 Bioquímica texto y aplicaciones clínicas, España; Editorial: Reverté, S. A.
- Guillermo Ruíz Reyes; 2004; Fundamentos de interpretación Clínica de los exámenes de Laboratorio; México; Editorial Médica Panamericana.
- Michael L. Bishop; 2007; Química Clínica principios, procedimientos y correlaciones; México; Editorial: Mc. Graw Hill.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	50 / 140

Triglicéridos

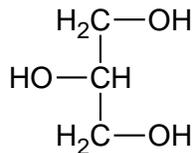
Objetivos

- Cuantificar la concentración sérica de los triglicéridos
- Interpretar el valor obtenido relacionándolo con las patologías más comunes

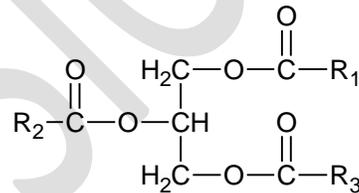
Generalidades

Los lípidos, a los que se les suele llamar como grasas, tienen una función dual, la de proveer una fuente rica de energía, debido a sus enlaces carbono-hidrógeno (C-H), así mismo, sus características fisicoquímicas le confieren la facilidad de formar parte de las membranas celulares y, por tanto, desempeñan también una función estructural en las células. Los lípidos transportados por las lipoproteínas; a saber, ácidos grasos, fosfolípidos, colesterol y ésteres de colesterol, son los lípidos principales hallados en las células.

Como se puede inferir del nombre, los triglicéridos contienen tres moléculas de glicerol por enlaces de éster. Debido al gran número de formas posibles de los ácidos grasos (AG) que se unen al glicerol, los TG pueden ser potencialmente distintos en estructura.

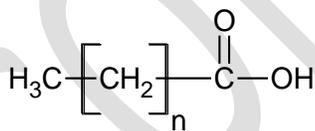


Glicerol

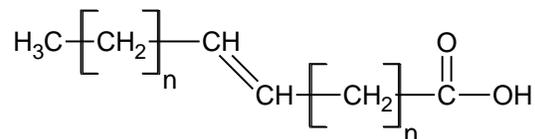


Triglicérido

Un ácido graso (AG), que por lo general es una cadena lineal de hidrocarburo con un grupo carboxilo terminal, puede estar saturado o no. Los TG que tienen AG saturados y sin curvas en su estructura, están más agrupados y tienden a ser sólidos a temperatura ambiente, en contraste con los AG insaturados *cis*, estructuras no lineales que tienden a ser aceites a temperatura ambiente.



Ácido Graso Saturado



Ácido Graso Insaturado *cis*

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) $[\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}]$.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	51 / 140

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.

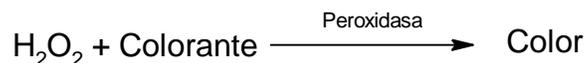
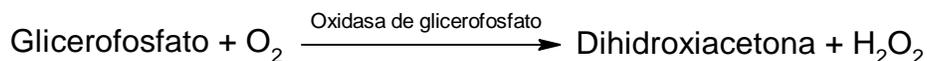
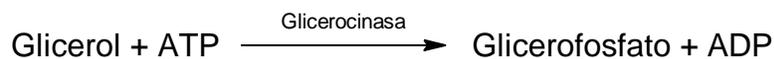
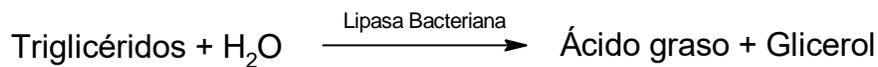
La medición de los TG séricos junto con el colesterol es útil para detectar ciertos trastornos genéticos y otros tipos de trastornos metabólicos, así como para caracterizar el riesgo de desarrollar enfermedad coronaria. El valor de los TG se emplea también para la estimación del colesterol LDL (C-LDL)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

Principio de la Reacción

Varias secuencias de reacción enzimática están disponibles para la medición de TG. En todas se emplean lipasas para separar los ácidos grasos del glicerol.





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	52 / 140

Material, Reactivos y equipo

Material

Suero o plasma libre de hemólisis
Anticoagulante EDTA 5 %

Reactivos

Reactivo 1 Tampón	GOOD Ph 7.5 p-Clorofenol	50 mmol 2mmol/L
Reactivo 2 enzimas	Lipoprotein lipasa (LPL) Glicerol quinasa (GK) Glicerol-3-oxidasa(GPO) Peroxidasa (POD) 4-AminoPhenazone (4-AF) ATP	150000 U/L 500 U/L 2500 U//L 440 U/L 0.1 mmol/L 0,1 mmol/L
Trigliceridos calibrador	Patrón primario acuoso de trigliceridos	200mg/dl.

Equipo

Espectrofotómetro
Estufa a 37 °C
Celdas de 1cm de paso de luz
Pipeta automática de 100 µl

Servicios. No aplica

Técnica

- 1.-Condiciones de ensayo
Longitud de onda 505 nm
Temperatura 37°C
- 2.- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada
- 3.-Pipetear en una cubeta

	Blanco	Patrón	Muestra
Reactivo de trabajo (ml)	1.0	1.0	1.0
Patrón (µL)	-	10	-
Muestra (µL)	-	-	10

- 4.-Mezclar e incubar 5 minutos a 37º grados o 10 minutos a temperatura ambiente.
- 5.-Leer la absorbancia(A) del patrón y la muestra frente al blanco del reactivo .El color es estable como mínimo 30 minutos.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	53 / 140

- i. Muestra x 200(conc. Patrón)= mg/dl de triglicéridos en la muestra
(B) patrón

Rangos de referencia

De acuerdo a la NOM-037-SSA2-2002, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias, para evitar complicaciones cardiovasculares, los valores de TG deben estar dentro de los valores recomendables.

Unidades	Recomendable	Limítrofe	Alto Riesgo	Muy Alto Riesgo
Tradicional (mg/dL)	< 150	150-200	> 200	> 1000
SI (mmol/L)	< 1.71	1.71-2.28	> 2.28	> 11

Factores de conversión	Para convertir	a	Multiplícar por:
	mg/dL	mmol/L	0.011
	mmol/L	mg/dL	88.54

Resultados

Interpretar el resultado obtenido

Cuestionario

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 TG?
5. Enlista la cantidad de triglicéridos que tiene cada una de las lipoproteínas

Referencias

- Bernard, HJ. Todd-Sanford-Davidsohn Diagnóstico y Tratamiento Clínicos por el Laboratorio. 8ª Ed. Salvat, España 1988.
- Bishop, ML. Química Clínica; Principios, procedimientos y correlaciones. 5ª Ed. McGraw-Hill, México 2006.
- Champe, PC., Harvey, RA. y Ferrier, DR. Bioquímica. McGraw-Hill. México 2006.
- Feduchi, CE, Blasco, CI, Romero, MCS, and Yañez, CE. 2011. Bioquímica Conceptos Esenciales. 1st ed. Madrid: Médica Panamericana.
- Secretaria de Salud, Diario Oficial de la Federación Norma Oficial Mexicana NOM-037-SSA2-2002, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/037ssa202.html> [Accedido marzo 19, 201



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	54 / 140

Colesterol

Objetivos

- Cuantificar la concentración sérica del colesterol
- Interpretar el valor obtenido relacionándolo con las patologías más comunes

Generalidades

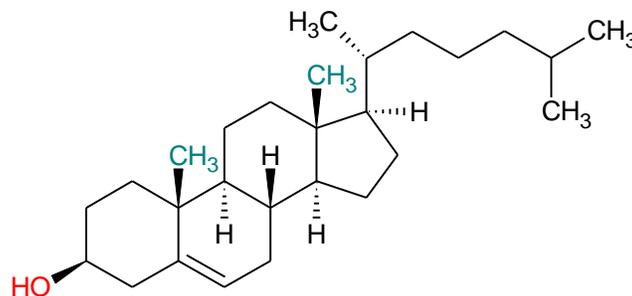
El colesterol es un esteroide que está presente en todos los tejidos animales y que cumple con diversas funciones como son:

- Estructurales en las membranas celulares
- Síntesis de ácidos biliares
- Síntesis de hormonas
- Transporte de lípidos a través de las lipoproteínas
- Precursor de vitamina D

Es también el responsable de la Aterosclerosis, principal patología cardiovascular asociada al incremento de los lípidos circulantes. El colesterol circulante puede provenir de la de la dieta (**vía exógena**) o de la síntesis de novo (**vía endógena**), la síntesis del colesterol involucra una serie de cuatro etapas que incluyen:

- **Primera etapa:** Síntesis de los **isoprenos** activados a partir de **acetil CoA**.
- **Segunda etapa:** Condensación de seis moléculas de isoprenos activados para formar **escualeno** (C₃₀)
- **Tercera etapa:** Ciclación del escualeno a **lanosterol** y conversión final a **colesterol** (C₂₇)

Estructuralmente, el colesterol es una molécula formada de cuatro anillos y 27 carbonos en total, entre los que destacan **dos radicales metilo** (posición C-10 y C-13), una **cadena alifática** (posición C-17), un **grupo hidroxilo** (posición C-3) y una **insaturación** entre los carbonos C-5 y C-6.



Dentro de las patologías asociadas a los lípidos, triglicéridos y colesterol, está la aterosclerosis que junto a la diabetes, la hipertensión y las dislipidemias se conoce como **Síndrome X**.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	55 / 140

Principio de la Reacción

Los métodos antiguos para el análisis de colesterol estaban sometidos a una gran variación analítica. Esto debido a la poca o baja reactividad de los ésteres, por lo que hoy en día las técnicas analíticas utilizan **colesterolesasas**, las cuales rompen los enlaces estéricos para generar colesterol libre y reduce notablemente la inexactitud de la prueba.

Una de los primeros métodos para cuantificar el colesterol incluía la obtención de productos coloreados haciendo reaccionar al colesterol con sustancias fuertemente ácidas, éste método se conoce como **Lieberman-Burchard**, que involucra cloroformo, anhídrido acético, ácido acético o sulfúrico, produciendo un complejo colorido verde. La variante con sales de hierro y ácido sulfúrico es la técnica de **Salkowski**, y se obtiene un complejo púrpura.

Debido a las desventajas de los métodos tradicionales, fue necesario desarrollar técnicas más sencillas, rápidas y seguras por lo que se empezó a utilizar enzimas. El método atribuido a Flegg lleva a cabo tres reacciones enzimáticas:

- **Hidrólisis** de los ésteres colesterol mediante **colesterolesasas (CE)**.
- **Oxidación** del colesterol mediante **colesterol oxidasa (CO)**.
- **Reducción** del peróxido mediante una **peroxidasa (P)**.

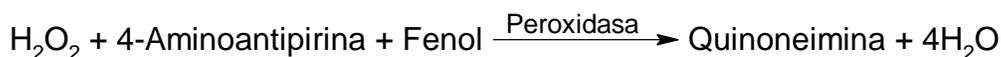
Etapa 1)



Etapa 2)



Etapa 3)



CE = Colesterol esterasa

CO = Colesterol Oxidasa

Material, reactivos y equipo

Material

Suero o plasma libre de hemólisis

Anticoagulante EDTA 5 %



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	56 / 140

Reactivos

Reactivo 1 Tampón	PIPES ph 6.9 Fenol	90 mmol 26mmol/L
Reactivo 2 enzimas	Colesterol esterasa(CHE) Colesterol oxidasa(CHOD) Peroxidasa(POD) 4-aminofenazona(4-AF)	300U/L 300U/L 1250U/L 0.4mmol/L
Colesterol calibrador	Patrón primario acuoso de colesterol	200mg/dl.

Equipo

Espectrofotómetro
Estufa a 37 °C
Celdas de 1cm de pasó de luz
Pipeta automática de 100 µl

Servicios. No aplica

Técnica

(Cinética)

- 1.-Condiciones de ensayo
Longitud de onda 505 nm
Temperatura 37°C
- 2.- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada
- 3.-Pipetear en una cubeta

	Blanco	Patrón	Muestra
Reactivo de trabajo (ml)	1.0	1.0	1.0
Patrón (µL)	-	10	-
Muestra (µL)	-	-	10

- 4.-Mezclar e incubar 5 minutos a 37° grados o 10 minutos a temperatura ambiente.
- 5.-Leer la absorbancia(A) del patrón y la muestra frente al blanco del reactivo .El color es estable como mínimo 60 minutos.

Cálculos

- ii. $\text{Muestra} \times 200 \text{ (conc. Patrón)} = \text{mg/dl de colesterol en la muestra}$
(C) patrón



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	57 / 140

Rangos de referencia

De acuerdo la NOM-037-SSA2-2002, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias, los valores de referencia son:

	Recomendable	Limitrofe	Alto Riesgo	Muy Alto Riesgo
CT	<200	200-239	≥240	-----
C-LDL	<130	130-159	≥160	>190
TG	<150	150-200	>200	>1000
C-HDL	>35	-----	<35	-----

Los valores coinciden con los establecidos por la

Unidades	Recomendable	Limítrofe	Alto Riesgo
Tradicional (mg/dL)	< 200	200-239	> 240
SI (mmol/L)	< 5.18	5.18-6.19	> 6.22

Resultados

Interpretar el resultado obtenido

Cuestionario

1. ¿Cuál es el papel de las lipoproteínas en el transporte del colesterol?
2. ¿Cuál es la función de la HDL y LDL en el metabolismo del colesterol?
3. Investigue las causas por las que un paciente con diabetes mellitus desarrolla aterosclerosis
4. Enumere la secuencia de eventos que ocurren en la formación del ateroma
5. ¿Cuáles son las consecuencias de la elevación de colesterol en plasma?

Referencias

- Anderson, SC, and Cockayne, S. 1993. *Química Clínica*. México, D.F.: Interamericana McGraw-Hill.
- Feduchi, CE, Blasco, CI, Romero, MCS, and Yañez, CE. 2011. *Bioquímica Conceptos Esenciales*. 1st ed. Madrid: Médica Panamericana.
- McKee, T, and McKee, JR. 2009. *Bioquímica; Las Bases Moleculares De La Vida*. 4th ed. México: McGraw-Hill.
- Secretaría de Salud, Norma Oficial Mexicana NOM-037-SSA2-2002, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/037ssa202.html> [Accedido marzo 19, 2012].



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	58 / 140

Bilirrubinas

Objetivos

- *Determinar cuantitativamente la concentración 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)*



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	59 / 140

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.

Interferencias.

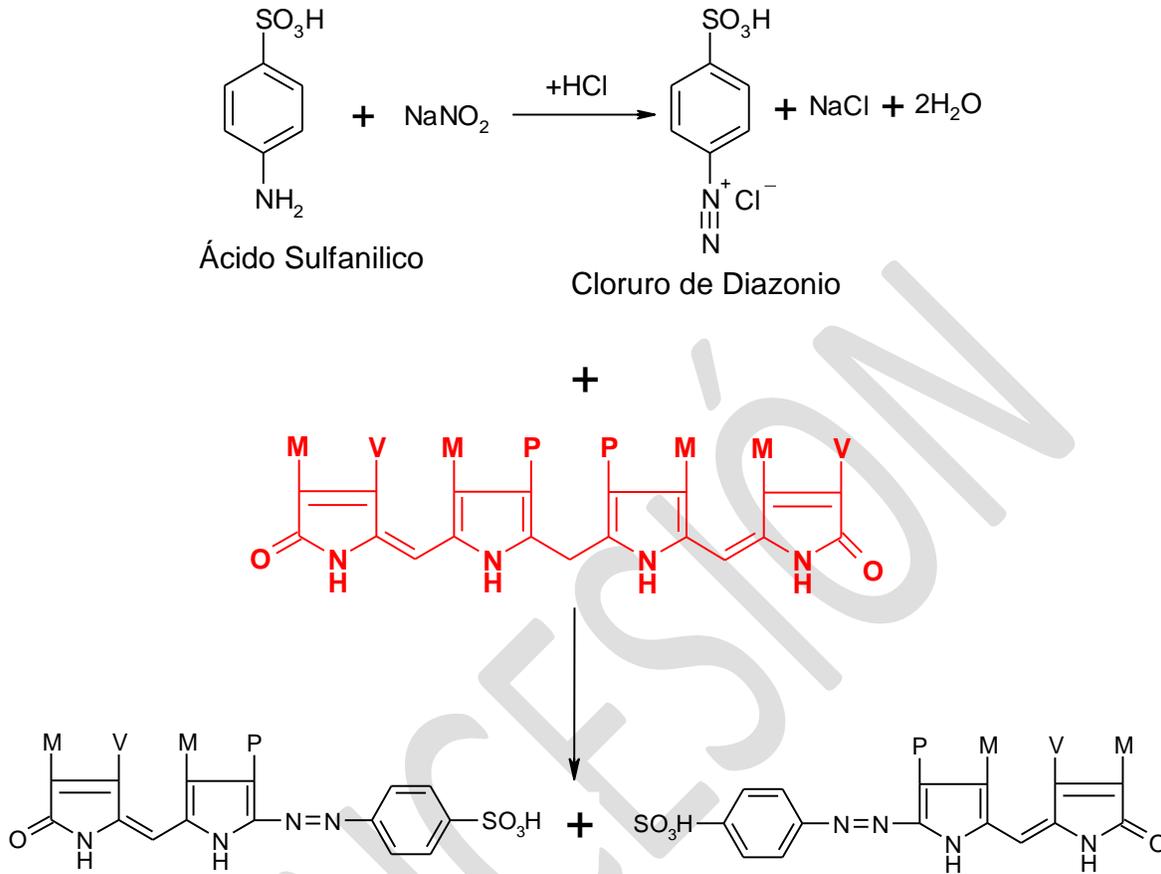
1. Si la muestra se expone durante una hora a la luz solar o a la luz artificial intensa, el contenido de bilirrubina disminuye.
2. No se debe de administrar medio de contraste 24 horas antes de la prueba; además, una comida con abundantes grasas también puede reducir la cifra de bilirrubina al interferir con las reacciones químicas.
3. Las burbujas de aire y la agitación de la muestra pueden disminuir la cifra de bilirrubinas.
4. Algunos alimentos (zanahorias, betabel y camotes), así, como ciertos medicamentos aumentan el tinte amarillento del suero, sin que se eleve la cantidad de bilirrubina.
5. El ayuno prolongado incrementa la bilirrubina.

Principio de la reacción

La bilirrubina se convierte en azobilirrubina mediante el ácido sulfanílico diazotado midiéndose fotométricamente. De las dos fracciones presentes en suero, bilirrubin-glucurónido y bilirrubina libre ligada a albúmina, solo 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.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	60 / 140



Material, reactivos y equipo

Material

Suero o plasma libre de hemólisis
Anticoagulante EDTA 5 %

Reactivos

Reactivo 1 (D)	Ácido sulfanílico Ácido clorhídrico	30 mmol/L 150 mmol/L
Reactivo 2(T)	Ácido sulfanílico Ácido clorhídrico (ClH) Dimetilsulfoxido (DMSO)	30 mmol/L 50 mmol/L 7mmol/L
Reactivo 3	Nitrito de sodio	29mmol/L



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	61 / 140

Equipo

Espectrofotómetro
Estufa a 37 °C
Celdas de 1cm de paso de luz
Pipeta automática de 100µl

Servicios. No aplica

Técnica

1.-Condiciones de ensayo

Longitud de onda 555 nm
Temperatura 15-25°C

2.- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada

3.-Pipetear en una cubeta

	Bilirrubina Total	Bilirrubina Directa
Reactivo1(D) (ml)	-	1.5
Reactivo 2 (T) (ml)	1.5	
Muestra (µL)	100	100

4.-Mezclar y leer cada una de las muestras exactamente a los 5 minutos.

Calculo:

Bilirrubina total: factor teórico (T)= 19.1

Factor teórico Bilirrubina directa: (D)= 14

BT X factor teórico= mg/dl.

BD x factor teórico= mg/dl

Rangos de referencia

Adultos

- Bilirrubina total. 0.2 a 1.0 mg/dL. ó 3.4 a 17.1 µmol/L
- Bilirrubina directa conjugada: 0 a 0.2 mg/dL ó 0 a 3.4 µmol/L

Recién nacidos

- Bilirrubina indirecta no conjugada: 0.2 a 0.8 mg/dL ó 3.4 a 13.68 µmol/L
- Bilirrubina total: 1.0 a 10.0 mg/dL.
- Bilirrubina conjugada /directa): 0.0 a 0.8 mg/dL
- Bilirrubina no conjugada (indirecta): 0.0 a 10.0 mg/dL.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	62 / 140

Resultados

Interpretación de los resultados obtenidos

Cuestionario

1. *Investiga la fisiopatología de:*
 - *Bilirrubina directa*
 - *Bilirrubina indirecta*
 - *Bilirrubina total*
2. *¿Cuál es la aplicación clínica de la determinación de bilirrubinas?*
3. *Esquematiza los siguientes tipos de ictericias*
 - *Pre-hepática*
 - *Intra-hepática*
 - *Post-hepática*
4. *Ejemplifica tres patologías, donde se caracterice por tener*
 - *Bilirrubina indirecta elevada*
 - *Bilirrubina directa elevada*
 - *Bilirrubina indirecta normal y bilirrubina directa elevada*
 - *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

- *Jacques Wallach; 2002; Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio; Barcelona, Editorial: Masson*
- *Kolman – Ohm; 2004; Bioquímica texto y atlas; Buenos Aires Argentina, Editorial: Panamericana*
- *Thomas M. Devlin; 2007 Bioquímica texto y aplicaciones clínicas, España; Editorial: Reverté, S. A.*
- *Guillermo Ruíz Reyes; 2004; Fundamentos de interpretación Clínica de los exámenes de Laboratorio; México; Editorial Médica Panamericana.*
- *Michael L. Bishop; 2007; Química Clínica principios, procedimientos y correlaciones; México; Editorial: Mc. Graw Hill.*



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	63 / 140

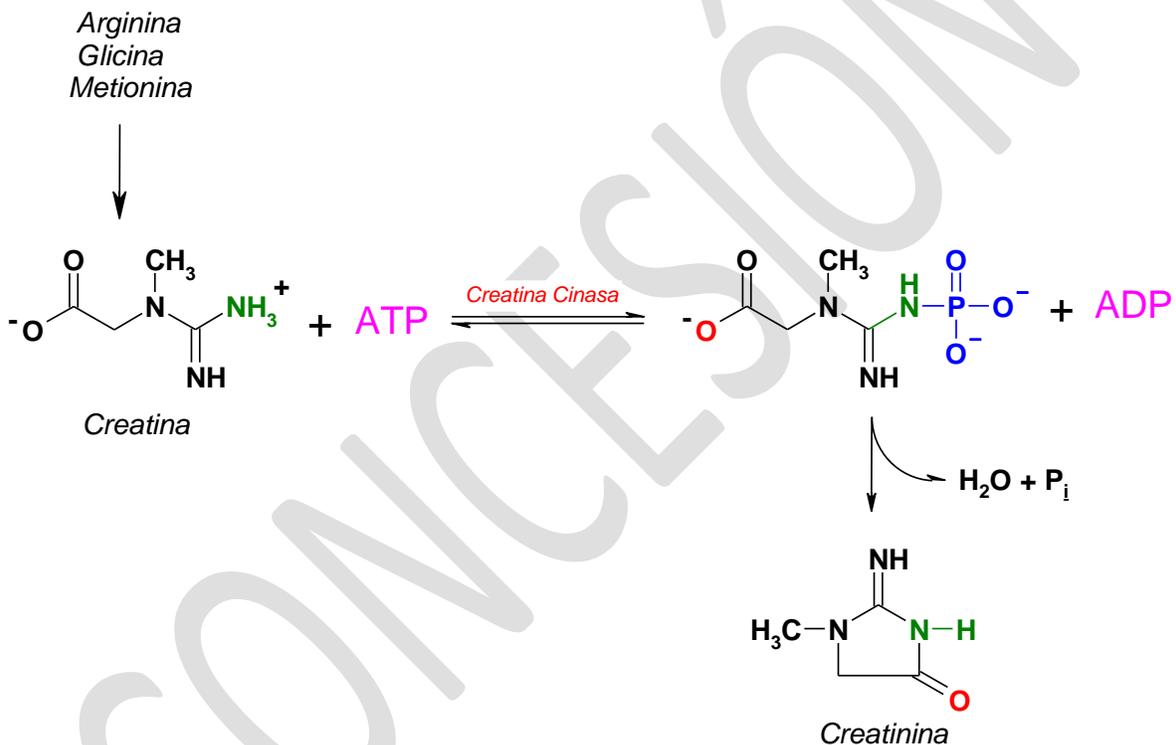
Creatinina

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.



Por lo tanto la producción de creatinina endógena permanece constante mientras la masa muscular se mantenga de igual forma. Toda 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 concentración normal de creatinina en el plasma es de 0.7 a 1.1 mg/dL. Los incrementos en la concentración plasmática se emplean frecuentemente como un indicador de insuficiencia renal.



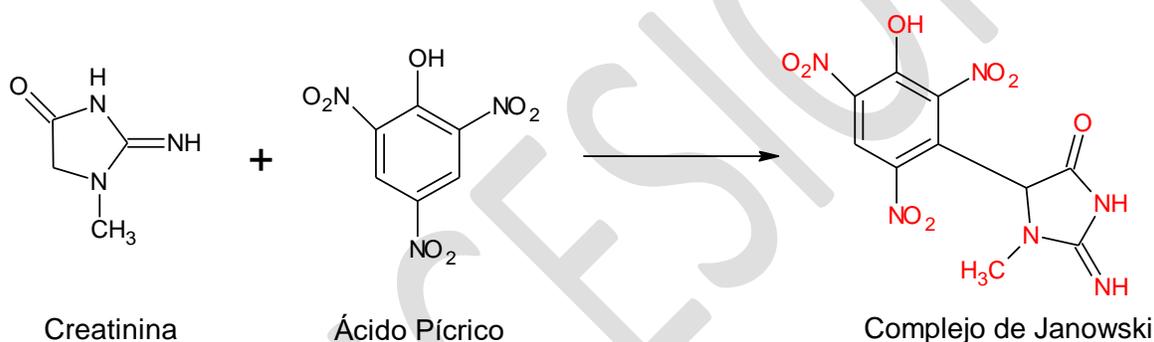
Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	64 / 140

Significado Clínico

La creatinina es un producto de desecho que se forma 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 aquellos pacientes que requieren de diálisis. Esta prueba no es conveniente para detectar estados tempranos de enfermedad del riñón.

Principio de la reacción

La creatinina forma en solución alcalina con ácido pícrico un compuesto de color anaranjado amarillento cuya intensidad es directamente proporcional a la concentración de creatinina en la muestra ensayada.



Materiales, reactivos y equipo

Material

Suero o plasma heparinizado
Anticoagulante heparina

Reactivos

Reactivo 1 Reactivo pícrico	Ácido pícrico	17.5 mmol/L
Reactivo 2 Reactivo alcalinizante	Hidróxido sódico	0.29 mol/L
Creatinina Calibrador	Patrón primario acuoso de creatinina	2 mg/dL



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	65 / 140

Equipo

Espectrofotómetro

Estufa a 37 °C

Celdas de 1cm de paso de luz

Pipeta automática de 100 µl

Servicios. No aplica

Técnica

1.-Condiciones de ensayo

Longitud de onda 492 nm

Temperatura 37° C /15-25°C

2.- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente al blanco de reactivo

3.-Pipetear en una cubeta

	Blanco	Patrón	Muestra
Reactivo de trabajo (ml)	1.0	1.0	1.0
Patrón (µL)	-	100	-
Muestra (µL)	-	-	100

4.-Mezclar y leer la absorbancia del patrón y la muestra por separado a los 30 segundos (A_1) y al cabo de 90 segundos (A_2) de la adición de la muestra.

5.-Calcular: $\Delta A = A_2 - A_1$.

Cálculos

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

Rangos de referencia

- **Hombres:** 0.7 a 1.4 mg/dL
- **Mujeres:** 0.6 a 1.1 mg/dL

Resultados

Interpretar el resultado obtenido



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	66 / 140

Cuestionario

1. ¿Qué es la creatinina?
2. ¿Cuál sería el diagnóstico de un paciente con 5mg/dL de creatinina en plasma?
3. ¿Qué importancia tiene la creatina en el organismo?
4. ¿Qué es la creatinuria?
5. ¿Qué valor diagnóstico tiene la presencia de creatinina en orina?

Referencias

- Baynes, John W., 2011. *Bioquímica Médica*, Barcelona: Elsevier
- Koolman, Röhm., 2012. *Bioquímica Humana*, Madrid :Panamericana
- Swanson, Todd A.2011. *Bioquímica y Biología Molecular*, U.S. : Wolters Kluwer
- F. Ganong, William. 1998. *Fisiología Médica*, U.S : Manual Moderno



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	67 / 140

Ácido úrico

Objetivos

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

Generalidades

El ácido úrico se forma de la degradación de los ácidos nucleicos y constituye el producto final del metabolismo de las purinas. Esta sustancia se puede acumular en los líquidos del organismo cuando falta la enzima uricasa. Aproximadamente 66% del ácido úrico producido diariamente es excretado por los riñones, mientras que el 33% restante se elimina por la materia fecal. Esta prueba se basa en que existe sobreproducción de ácido úrico cuando la degradación celular y el catabolismo de ácidos nucleicos es excesivo (como sucede en la gota), en casos de producción y destrucción excesiva de células (como en la leucemia) o cuando se presenta incapacidad para excretar la sustancia producida (como en la insuficiencia renal).

El ácido úrico se suele medir al valorar la insuficiencia renal, gota y la leucemia. En el paciente hospitalizado, la causa más frecuente de elevación de ácido úrico es la insuficiencia renal, mientras que la gota es la menos frecuente. Esta prueba también es útil para valorar el pronóstico de la eclampsia, ya que el nivel de ácido úrico refleja el grado de lesión hepática en la toxemia del embarazo.

Significado clínico

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.*



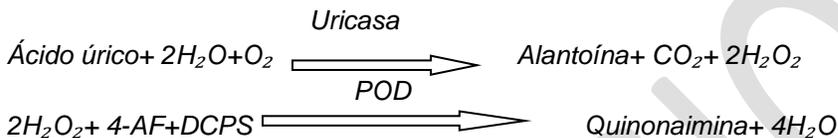
Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	68 / 140

El ácido úrico disminuye en casos de:

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

Principio de la reacción

El ácido úrico es oxidado por la uricasa a alantoína y peróxido de hidrógeno ($2H_2O_2$) 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.

Interferencias

- Tanto la tensión emocional como la física elevan artificialmente el ácido úrico.
- Muchos fármacos provocan incremento o reducción del ácido úrico.
- La dieta con abundantes purinas (hígado, riñón, pan dulce) sube el nivel de ácido úrico.

Materiales, reactivos y equipo

Material.

Suero o plasma libre de hemólisis
Anticoagulante EDTA 5 %

Reactivos

Reactivo 1 Tampón	Fosfatos pH 7.4 2-4 Diclorofenol Sulfonato (DCPS)	50 mmol/L 4 mmol/L
Reactivo 2 enzimas	Uricasa Peroxidasa Ascorbato oxidasa 4-aminofenazona(4-AF)	60 U/L 660 U/L 200 U/L 1.0 mmol/L
Ácido úrico calibrador	Patrón primario acuoso de Ácido úrico	6 mg/dL.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	69 / 140

Equipo

Espectrofotómetro
Estufa a 37° C
Celdas de 1cm de pasó de luz
Pipeta automática de 100 µl

Servicios. No aplica

Técnica

1.-Condiciones de ensayo

Longitud de onda 520 nm
Temperatura 37°C

2.- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada

3.-Pipetear en una cubeta

	Blanco	Patrón	Muestra
Reactivo de trabajo (ml)	1.0	1.0	1.0
Patrón (µL)	-	25	-
Muestra (µL)	-	-	25

4.-Mezclar e incubar 5 minutos a 37° grados o 10 minutos 15 a 25° C.

5.-Leer la absorbancia(A) del patrón y la muestra frente al blanco del reactivo .El color es estable como mínimo 30 minutos.

Cálculos

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

Rangos de referencia

	Unidades Convencionales	S.I.
Varones	3.5 A 7.2 mg/dL	0.21 a 0.42 mmol/L
Mujeres	2.6 a 6.0 mg/dL	0.154 a 0.35 mmol/L
Niños	2.0 a 5.5 mg/dL	0.12 a 0.32 mmol/L

Resultados

Interpretación de los resultados obtenidos



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	70 / 140

Cuestionario

1. *Esquematiza la fisiopatología del ácido úrico en las siguientes patologías: Gota, Artritis reumatoide, Leucemia*
2. *Explica cuál es la importancia clínica de la determinación de ácido úrico.*
3. *Explica porque es importante vigilar los valores de ácido úrico durante el tratamiento de la leucemia*
4. *Explica porque después de la administración de medicamentos citotóxicos se pueden producir niveles citotóxicos peligrosos de ácido úrico.*
5. *Esquematiza el catabolismo de las purinas.*

Referencias

- *Jacques Wallach; 2002; Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio; Barcelona, Editorial: Masson*
- *Kolman – Ohm; 2004; Bioquímica texto y atlas; Buenos Aires Argentina, Editorial: Panamericana*
- *Thomas M. Devlin; 2007 Bioquímica texto y aplicaciones clínicas, España; Editorial: Reverté, S. A.*
- *Guillermo Ruíz Reyes; 2004; Fundamentos de interpretación Clínica de los exámenes de Laboratorio; México; Editorial Médica Panamericana.*
- *Michael L. Bishop; 2007; Química Clínica principios, procedimientos y correlaciones; México; Editorial: Mc. Graw Hill.*

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	71 / 140

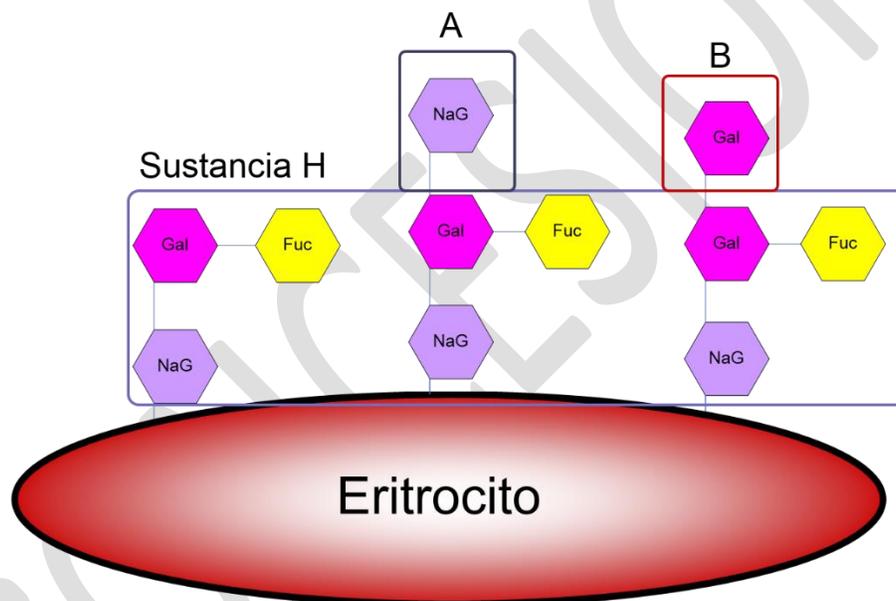
Grupos Sanguíneos

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 extensamente 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 u 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 **aglutinarán**), 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.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	72 / 140

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 provocarían la lisis de los eritrocitos del niño, trastorno conocido como enfermedad hemolítica del recién nacido.

Principio de la reacción.

El antisuero provocará una aglutinación directa de los hematíes que lleven el correspondiente antígeno AB0. La no aglutinación indica en general la ausencia de antígenos AB0

Material, reactivos y equipo

Material

- Torundas con alcohol
- Lancetas
- Portaobjetos o placa excavada de porcelana
- Aplicadores de madera

Reactivos

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

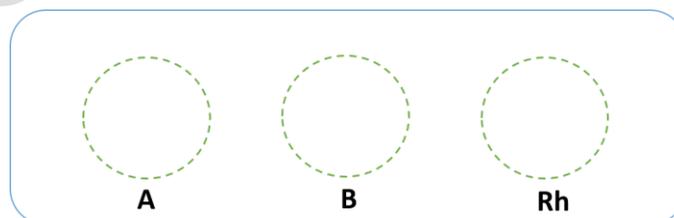
Equipo

- Microscopio óptico o Estereoscopio.

Servicios. No aplica

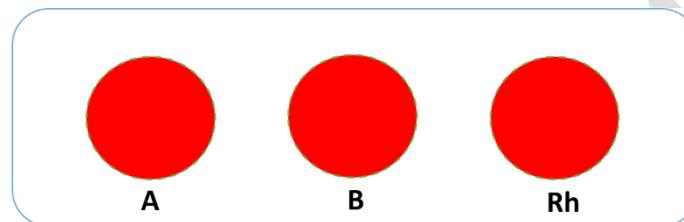
Técnica.

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

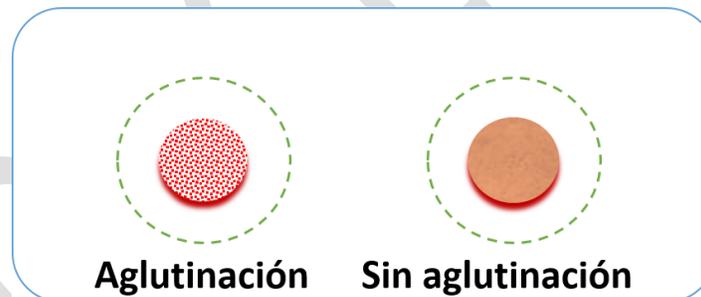


Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	73 / 140

- 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 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, enfocándolo a 10x y 40x. En caso de la placa de porcelana utilizar el estereoscopio.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	74 / 140

Posibles Resultados

Una vez transcurrido el tiempo marcado por la norma, podremos tener los siguientes resultados según el grupo sanguíneo AB0 y Rh

	Anti-A	Anti-B	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 que se diferencian los antígenos en el sistema AB0?
3. ¿Mencione en que 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 AB0 basado en la herencia Mendeliana
6. Explique la importancia de la prueba directa e inversa

Referencias

- Baynes, John W., 2011. *Bioquímica Médica*, Barcelona: Elsevier
- Harris, J.B., 1976, *Grupos sanguíneos y Técnicas para su identificación*, México: Manual moderno



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	75 / 140

Pruebas Cruzadas

Objetivo:

- Determinar si la sangre de un receptor y un donador, son compatibles, para practicar una transfusión sanguínea.
- Interpretar el resultado, comparándolo

Generalidades

Para transfundir sangre a un individuo, es obligatorio la determinación del grupo sanguíneo y el factor Rh del receptor, para que la sangre a transfundir, sea del mismo tipo sanguíneo y factor Rh del paciente.

Un análisis de laboratorio nos permitirá *in vitro* detectar si en ellas, exista un anticuerpo anormal, que pueda causar aglutinación o hemólisis de los glóbulos rojos en la circulación sanguínea del receptor. La identificación correcta de la sangre que se va a transfundir es de suma importancia al realizar las pruebas cruzadas, porque una vez iniciada la transfusión cualquier error humano es imposible de corregir poniendo en peligro la vida del paciente.

Principio de la Reacción

Existen dos variantes de las pruebas cruzadas según los componentes que se pongan en contacto, llamadas Prueba Mayor Prueba Menor.

Prueba Cruzada Mayor (del donador)

En esta prueba ponemos en contacto a los **eritrocitos del donador** con **plasma del receptor**, en caso de presentarse una aglutinación (**incompatibilidad**) debe **rechazarse** la sangre.

Prueba Cruzada Menor (del receptor)

En esta prueba ponemos en contacto al **plasma del donador** con **eritrocitos del receptor**, en caso de presentarse una aglutinación (**incompatibilidad**) debe **fraccionarse** la sangre.

	Donador (D) E_D y P_D	Receptor (R) E_R y P_R
Prueba Mayor		$E_D + P_R$
Prueba Menor		$E_R + P_D$

E = Eritrocitos; P = Plasma

Es muy importante que no nos quedemos con la idea de que **siempre deba ser transfundida la sangre total**, en ciertas situaciones se precisa la transfusión de la sangre total o uno de sus componentes, cuando así se requiera se deben considerar las siguientes condiciones:



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	76 / 140

<i>Para transfundir</i>	<i>Condición</i>
<i>Sangre total</i>	<i>Grupo sanguíneo idéntico</i>
<i>Hematíes</i>	<i>Suero del receptor compatible</i>
<i>Plasma</i>	<i>Células del receptor compatible</i>
<i>Plaquetas</i>	<i>Idéntica a las células del receptor o en su caso ABO</i>

Material, reactivos y equipo

Material

- Torundas con alcohol
- Sistema de extracción sanguínea
 - Utilizar EDTA como anticoagulante
- Cuatro tubos de ensayo de 13x100 mm
- Pipetas Pasteur
- Aplicadores de madera
- Gradilla
- Portaobjetos
- Parafilm

Reactivos

- Solución salina (NaCl al 0.85%)
- Antisueros para tipificación AB0 y Rh
 - Anti A
 - Anti B
 - Anti D

Equipo

- Centrífuga

Servicios. No aplica

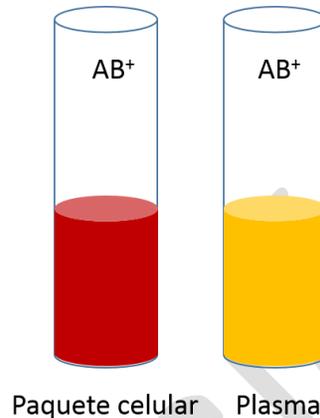
Técnica

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.

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	77 / 140

5. Separar el plasma de cada muestra a su correspondiente tubo, rotulado con el grupo sanguíneo, utilizando una pipeta Pasteur para cada muestra.



Lavados

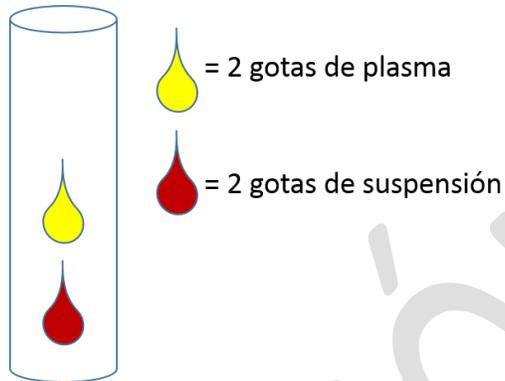
1. Al tubo con paquete celular adicionar 4 mL de solución salina 0.85 %, resuspender con cuidado cubriendo el tubo con Parafilm® y centrifugar a 4000 rpm durante 5 minutos.
2. Desechar el sobrenadante, que corresponde a solución salina con anticuerpos y demás proteínas plasmáticas, utilizando su correspondiente 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

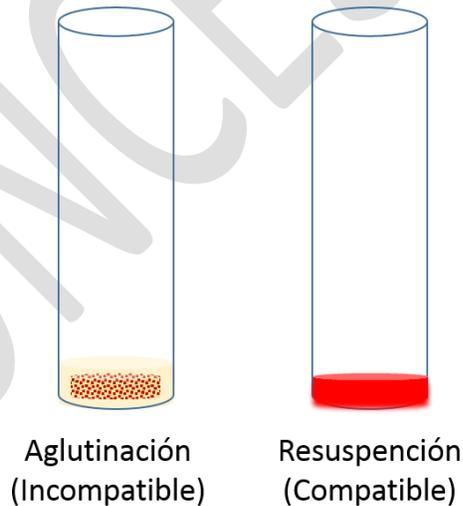
1. Seleccionar los tubos (plasma y suspensión de eritrocitos) de la sangre que funcionará como donador y receptor
2. Rotular dos tubos de ensayo con las siglas:
 - a. **PM** = Prueba Mayor
 - b. **Pm** = Prueba menor.
3. Para la **Prueba Mayor (PM)** agregar, con su correspondiente pipeta Pasteur, dos gotas de la suspensión de eritrocitos del donador al tubo y posteriormente dos gotas del plasma del receptor.

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	78 / 140

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.
- Una **resuspensión** se reporta como **compatible**.
 - Una **aglutinación** se reporta como **incompatible**.



Resultados

Interpretación de los resultados obtenidos



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	79 / 140

Cuestionario

1. *Cuáles son las consecuencias de una transfusión sanguínea incompatible.*
2. *Para el grupo sanguíneo B Rh positivo ¿cuál sería su posible donador?.*
3. *Si el receptor es AB Rh positivo y el donador A⁺ ¿cuál sería el resultado de las pruebas cruzadas?*
4. *¿Quién podría donarle paquete celular a un paciente A Rh negativo?*
5. *¿Qué es la eritroblastosis fetal?*

Referencias

- *Baynes, John W., 2011. Bioquímica Médica, Barcelona: Elsevier*
- *Murray Robert K., 2001. Bioquímica de Harper, México: Manual moderno*



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	80 / 140

Determinación cualitativa de la hormona gonadotropina coriónica humana (hCG)

Objetivo

- Identificación cualitativa de la presencia de hCG en orina utilizando la técnica de aglutinación hCG-Látex directa.

Generalidades

La cuantificación de hCG en suero se pueden usar para diferenciar un embarazo intrauterino normal de un embarazo ectópico.

La gonadotropina coriónica humana (hCG) es una glucoproteína producida por células trofoblásticas a concentraciones muy elevadas. La concentración materna de hCG circulante es alrededor de 100 UI/L en el momento de la menstruación prevista, pero ausente. Se alcanza una concentración máxima de 100,000 UI/L en la circulación materna a las 8 a 10 semanas de gestación. Disminuye a 10,000 a 20,000UI/L a las 18 – 20 semanas y se mantienen en esas cifras hasta llegar a término.

Significado Clínico

La hCG es una hormona secretada por la placenta de la mujer embarazada que aparece en sangre y orina después de la implantación del embrión fecundado. Puede ser detectada en orina a partir del tercer día de la pérdida del período menstrual y su concentración sigue aumentando hasta alcanzar niveles muy altos después de las 10 semanas.

Pueden presentarse falsos negativos en orina diluida, en el síndrome de feto muerto, en el aborto incompleto y en el embarazo ectópico. Falsos positivos pueden deberse a contaminación urinaria con bacterias, proteínas o sangre.

Material, reactivos y equipo

Material

Portaobjetos
Capilares
Orina de embarazada

Reactivos

Kit de Antisuero monoclonal de hCG.

Látex	Suspensión de partículas de látex cubiertas con anticuerpo monoclonal anti-hCG humana. Conservante
Control + Tapón rojo	Orina humana con una concentración de hCG mayor a 1600 UI/L. Conservante.
Control – Tapón azul	Suero animal. Conservante

Equipo

Microscopio óptico o estereoscopio



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	81 / 140

Servicios. No aplica

Técnica

Atemperar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente. La sensibilidad del ensayo disminuye a temperaturas bajas.

Depositar 100 μ L de la muestra a ensayar y una gota de cada uno de los controles Positivo y negativo, sobre círculos distintos de un porta.

Mezclar el reactivo de hCG-látex antes de usar. Depositar una gota (50 μ L) junto a cada una de las gotas anteriores.

Mezclar las gotas con un palillo procurando extender la mezcla por toda la superficie interior del círculo. Emplear palillos distintos para cada muestra.

Lectura e interpretación

Examinar macroscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación inmediatamente después de retirar el porta del agitador. La presencia de aglutinación indica una concentración de hCG igual o superior a 200 UI/L.

Rangos de referencia

- Suero : 5 – 50 UI/L 0.2 – 1 semana de gestación
- Orina : 50- 5000 UI/L entre 1 – 2.5 semanas de gestación

Resultados

Interpretación de los resultados obtenidos

Cuestionario

1. Gonadotropinas producidas por la estimulación de la GnRH a la hipófisis
2. ¿Qué hormona estimula la producción de progesterona por el cuerpo amarillo?
3. ¿Qué hormona estimula la producción de estradiol por el folículo ovárico?
4. ¿Cómo hace el diagnóstico de un embarazo normal, ectópico, mola hidatiforme y coriocarcinoma?
5. Explique el ciclo menstrua - haciendo énfasis en la secreción endócrina-

Referencias

- Swanson Tood, A., 2008. *Bioquímica y Biología Molecular*, España: Lippincott Williams And Wilkins.
- Koolman. Röhm., 2009. *Bioquímica Humana Texto y atlas*, España: Panamericana
- Ganong, William F., 1998. *Fisiología Médica*, México, D.F: Manual Moderno
- Speroff, León and Fritz, Marc A. 2006. *Endocrinología Ginecológica Clínica y esterilidad*, Philadelphia E,U. : Lippincott Williams And Wilkins



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	82 / 140

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.

Generalidades

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).

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.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	83 / 140

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:
- La glucosa disminuye
 - Las cetonas se disipan
 - El color se oscurece
 - El sedimento urinario se deteriora
 - Las bacterias (si existen) se multiplican
 - El pH se alcaliniza
 - La bilirrubina y el urobilinógeno se oxidan (si se exponen a la luz durante un periodo prolongado).

Valores de referencia

Características generales y cuantificaciones	Determinaciones químicas	Examen microscópico del sedimento
Color : Amarillo pálido ámbar	Glucosa negativo	Cilindros negativos , algún cilindro hialino ocasional
Aspecto: Transparente a ligeramente turbio	Cetonas negativo	Eritrocitos negativos o raros ((hasta 5/campo)
Densidad:: 1.015 a 1.025 con ingestión normal de líquidos	Sangre negativa	Cristales negativo
pH: 4.5 a 8.0 El individuo promedio tiene un pH de 5 a 6	Urobilinógeno: 0.1 A 1.0	Leucocitos negativos o raros (hasta 10/campo)
Volumen: 1,500 A 2,000 mL / 24 horas	Nitratos negativo	Células epiteliales escasas
<i>Esterasa leucocitaria negativa</i>		

Material, reactivos y equipo

Material

4 tubos de ensayo
Pipeta de 5 mL
Capilares
Portaobjetos
Muestra de orina

Reactivos

Tiras reactivas



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	84 / 140

Equipo

Centrífuga

Microscopio óptico

Servicios. No aplica

Técnica

Metodología para el 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 a los 90 – 120 segundos
6. Anotar los metabolitos donde se registraron cambios en el color de las almohadillas, indicando la concentración donde coincida el color.

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 portaobjetos
4. Dejar reposar durante 1 minuto aproximadamente.
5. Observar al microscopio con objetivo seco fuerte (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

Resultados

Interpretación de los resultados obtenidos



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	85 / 140

Cuestionario.

1. Describe cuales son las ventajas y desventajas del examen general de orina
2. Esquematiza como se lleva a cabo la formación de la orina
3. Investiga cual es el significado clínico de la presencia de:
 - a. Cristaluria
 - b. Cilindruria
 - c. Albuminuria
 - d. Bacteriuria
 - e. Nitritos
 - f. Eritrocitos
 - g. Leucocitos
4. Investiga el significado de poliuria, oliguria y anuria; anotando a partir de que volúmenes se considera cada uno de ellos.
5. Qué significado tiene una orina de color negro.

Referencias

- Jacques Wallach; 2002; Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio; Barcelona, Editorial: Masson
- Kolman – Ohm; 2004; Bioquímica texto y atlas; Buenos Aires Argentina, Editorial: Panamericana
- Thomas M. Devlin; 2007 Bioquímica texto y aplicaciones clínicas, España; Editorial: Reverté, S. A.
- Guillermo Ruíz Reyes; 2004; Fundamentos de interpretación Clínica de los exámenes de Laboratorio; México; Editorial Médica Panamericana.
- Michael L. Bishop; 2007; Química Clínica principios, procedimientos y correlaciones; México; Editorial: Mc. Graw Hill.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	86 / 140

Fórmula Roja

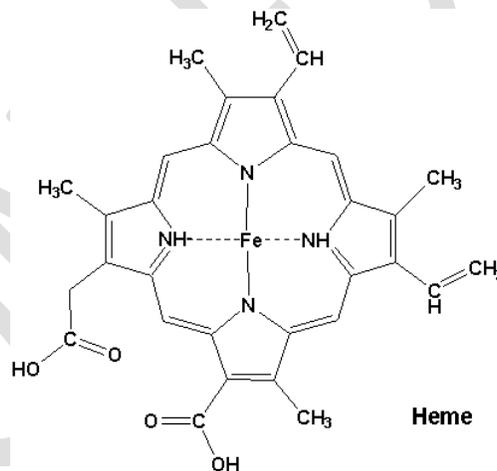
Hemoglobina

Objetivos

- *Determinar cuantitativamente la concentración de la hemoglobina.*
- *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



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	87 / 140

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.

Principio de la reacción

La hemoglobina es oxidada por la acción del ferricianuro a metahemoglobina y mediante el cianuro se convierte en cianometahemoglobina.

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de la hemoglobina presente en la muestra ensayada.



Fuentes de error

- Las personas que habitan en altitudes elevadas tienen cifras mayores, así como sucede con el hematocrito.
- La ingestión excesiva de líquidos provoca que la cifra baje (hemodilución).
- Normalmente, la cifra es mayor en lactantes antes de que se inicie la eritropoyesis activa.
- La hemoglobina suele disminuir en el embarazo
- Los fármacos que aumentan la hemoglobina son: gentamicina y la metildopa



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	88 / 140

Material, reactivos y equipo

Material

Suero o plasma libre de hemólisis
Anticoagulante EDTA 5 %

Reactivos

HEMOGLOBIN 50X	Ferricianuro de potasio Cianuro de potasio Dihidrógeno fosfato de potasio	0.60 mmol/L 77 mmol/L 2 mmol/L
HEMOGLOBIN CALIBRADOR	Patrón de hemoglobina Origen animal	15 g/dL

Preparación del reactivo de trabajo

Para 5 mL 4.9 mL de agua destilada + 2 gotas del reactivo
Para 250 mL 245 mL de agua destilada + 1 frasco (5mL) de reactivo

Equipo

Espectrofotómetro
Centrifuga
Estufa a 37° C
Celdas de 1cm de pasó de luz
Pipeta automática de 100 µL

Servicios. No aplica

Técnica

- 1.-Condiciones de ensayo
Longitud de onda 540 nm
Temperatura 15 – 25 °C
- 2.- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada
- 3.-Pipetear en una cubeta

	Blanco	Patrón	Muestra
Reactivo de trabajo (ml)	5.0	5.0	5.0
Patrón (µL)	-	20	-
Muestra (µL)	-	-	20

- 4.-Mezclar e incubar 3 minutos a temperatura ambiente (15 a 25° C)



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	89 / 140

5.-Leer la absorbancia(A) del patrón y la muestra frente al blanco del reactivo.

Cálculos

(A) Muestra x 15 (conc. Patrón)= g/dL de hemoglobina en la muestra
(A) Patrón

Con factor

(A) De la muestra x 36.77 = g/dL de hemoglobina en la muestra

Rangos de Referencia

- **Hombres:** 14 a 18 g/dL
- **Mujeres:** 12 a 16 g/dL

Aviso Clínico

La cifra preocupante de hemoglobina es < 5.0g/dl, ya que provoca shock hipovolémico, insuficiencia cardíaca y muerte.

Una cifra > a 20g/dl provoca coagulación capilar por hemoconcentración.

Resultados

Interpretación de los resultados obtenidos

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



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	90 / 140

Referencias

- Jacques Wallach; 2002; *Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio*; Barcelona, Editorial: Masson
- Kolman – Ohm; 2004; *Bioquímica texto y atlas*; Buenos Aires Argentina, Editorial: Panamericana
- Thomas M. Devlin; 2007 *Bioquímica texto y aplicaciones clínicas*, España; Editorial: Reverté, S. A.
- Guillermo Ruíz Reyes; 2004; *Fundamentos de interpretación Clínica de los exámenes de Laboratorio*; México; Editorial Médica Panamericana.
- Michael L. Bishop; 2007; *Química Clínica principios, procedimientos y correlaciones*; México; Editorial: Mc. Graw Hill.
- Bernadette F. Rodak; 2004; *Hematología Fundamentos y Aplicaciones Clínicas*; Argentina; Editorial Panamericana.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	91 / 140

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.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	92 / 140

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.

Interferencias.

1. Las persona que habitan en grandes altitudes tienen un HCT alto, al igual que la hemoglobina y cuenta eritrocitaria.
2. Normalmente, el valor disminuye ligeramente en la hidremia fisiológica del embarazo.
3. Los valores de referencia del HCT varían con la edad y el sexo. En el lactante, el valor es mayor debido a que el recién nacido tiene muchos eritrocitos macrocíticos. En la mujer, suele ser ligeramente menor que en el varón.
4. El hematocrito también tiende a ser menor después de los 60 años, lo que corresponde también a una cuenta eritrocitaria inferior en este grupo de edad.

Material, reactivos y equipo

Material

- 2 Pipetas pasteur
- Un tubo de Wintrobe
- 4 Tubos de ensaye 13x100
- Gradilla
- 2 Capilares sin heparina
- Plastilina

Reactivos

- EDTA 5 %

Equipo

- Centrífuga
- Balanza granataria

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.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	93 / 140

- 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

Interpretación de los resultados obtenidos



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	94 / 140

Cuestionario

1. *Explica porque el valor de HCT es mayor en personas que:*
 - a. *Viven a mayor altitud*
 - b. *En hombres*
2. *¿Explica porque al valor del Hct se le puede considerar con ± 2 unidades sobre el valor obtenido?*
3. *¿Explica porque un valor bajo del Hct no se puede tomar como un signo definitivo de anemia?*
4. *¿Explica porque un valor alto del Hct no se puede tomar como un signo definitivo de poliglobulia?*
5. *¿Cuál es la interpretación del Hct?*

Bibliografía

- *Jacques Wallach; 2002; Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio; Barcelona, Editorial: Masson*
- *Kolman – Ohm; 2004; Bioquímica texto y atlas; Buenos Aires Argentina, Editorial: Panamericana*
- *Thomas M. Devlin; 2007 Bioquímica texto y aplicaciones clínicas, España; Editorial: Reverté, S. A.*
- *Guillermo Ruíz Reyes; 2004; Fundamentos de interpretación Clínica de los exámenes de Laboratorio; México; Editorial Médica Panamericana.*
- *Michael L. Bishop; 2007; Química Clínica principios, procedimientos y correlaciones; México; Editorial: Mc. Graw Hill.*



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	95 / 140

Índices eritrocíticos

Concentración media de hemoglobina corpuscular (CMHC)

Objetivos

- Calcular la concentración media de la hemoglobina corpuscular (MCHC).
- Interpretar los resultados obtenidos con las patologías más comunes, de acuerdo a los valores de referencia.

Generalidades

En esta prueba se mide la concentración promedio de hemoglobina en los eritrocitos. La MCHC es muy útil para vigilar el tratamiento de la anemia debido a que las determinaciones hematológicas más precisas (hemoglobina y hematocrito) son las que se utilizan para calcular esta prueba.

La MCHC es una cifra que se calcula. Constituye la expresión de la concentración promedio de hemoglobina en los eritrocitos y, como tal, nos proporciona la relación entre el peso de la hemoglobina y el volumen de eritrocitos.

Se calcula a partir de la concentración de hemoglobina (Hb) y el número de eritrocitos.

Para su cálculo se utiliza la siguiente fórmula:

$$MCHC = \frac{Hb}{Hct} \times 100$$

Hb = hemoglobina

Hct = hematocrito %

Significado clínico

La MCHC se reducida significa que la unidad de volumen de eritrocitos contiene menos hemoglobina que lo normal, esto se observa en:

- a. Deficiencia de hierro
- b. Anemias macrocíticas
- c. Hemorragia crónica
- d. Anemia que responde a la piridoxina
- e. Talasemia
- f. Hidrocitosis
- g. Estomatocitosis congénita (por dilución del contenido hemoglobínico eritrocitario)

La anemia hipocrómica se caracteriza por una MCHC de 30 ó menos.

La MCHC elevada suele indicar esferocitosis; los eritrocitos no contienen más de 37 g/dL de hemoglobina, lo que sucede también en los recién nacidos y lactantes.

- a. Esferocitosis hereditaria (por disminución de la relación entre la superficie y el volumen eritrocitario)



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	96 / 140

- b. *En la deshidratación eritrocitaria o xerocitosis (por pérdida excesiva de agua por parte del eritrocito).*

Interferencias.

1. *La MCHC muestra una elevación falsa en presencia de:*
 - c. *Lipemia*
 - d. *Aglutininas frías*
 - e. *Rouleaux (fenómeno donde los eritrocitos se alinean en forma de monedas).*
 - f. *Con concentraciones altas de heparina.*
2. *Independientemente de los cálculos, es imposible que existan cifras mayores de MCHC de 37g/dL.*

Valores de referencia

31 a 37 g/dL

Material, reactivos y equipo

No aplica

Técnica

Con los datos obtenidos en la práctica de hemoglobina y hematocrito se aplica la formula arriba mencionada.

Los resultados solo son confiables cuando se obtienen a través de un clitómetro de flujo.

Resultados

Interpretación de los resultados obtenidos

Cuestionario

1. *¿Que indica un valor de CHCM mayor a 37g/dL?*
2. *¿Qué parámetros se necesitan para calcular la CHCM?*
3. *¿Que detecta el índice eritrocitario CHCM?*
4. *¿Qué utilidad clínica tiene la determinación del índice eritrocitario CHCM?*
5. *¿Qué términos técnicos se utilizan para denotar:*
 - a. *Cuando la CHCM está por debajo de los valores de referencia*
 - b. *Cuando la CHCM está dentro de los valores de referencia*
 - c. *Cuando la CHCM está por encima de los valores de referencia*



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	97 / 140

Referencias

- Jacques Wallach; 2002; *Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio*; Barcelona, Editorial: Masson
- Kolman – Ohm; 2004; *Bioquímica texto y atlas*; Buenos Aires Argentina, Editorial: Panamericana
- Thomas M. Devlin; 2007 *Bioquímica texto y aplicaciones clínicas*, España; Editorial: Reverté, S. A.
- Guillermo Ruíz Reyes; 2004; *Fundamentos de interpretación Clínica de los exámenes de Laboratorio*; México; Editorial Médica Panamericana.
- Michael L. Bishop; 2007; *Química Clínica principios, procedimientos y correlaciones*; México; Editorial: Mc. Graw Hill.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	98 / 140

Hemoglobina corpuscular media (HCM)

Objetivo

- *Determinar la hemoglobina corpuscular media mediante un análisis de clitómetro de flujo o utilizando los resultados de hemoglobina y glóbulos rojos.*

Generalidades

La cuantificación de la HCM es el promedio del peso de la hemoglobina por eritrocito. Este índice es muy importante en el diagnóstico de pacientes con anemias graves.

La HCM es un valor calculado. Es una expresión del peso promedio de la hemoglobina en los eritrocitos. La HCM se expresa en picogramos de hemoglobina por eritrocito.

Se calcula con la siguiente fórmula:

$$HCM = \frac{Hb}{GR} \times 10$$

Hb = hemoglobina

GR = número de glóbulos rojos

Significado clínico

1. *La HCM se eleva en presencia de anemia microcítica; si el valor es mayor a 31 pg (1 pg = 10⁻¹² g.), se dice que existe hipercromía relativa a la macrocitosis.*
2. *La HCM se reduce en presencia de anemia microcítica; si el valor es menor a 27 pg. Se dice que existe una hipocromía (microcitosis.)*
3. *La hipocromía suele asociarse a la microcitosis y la hipercromía relativa a la macrocitosis.*
4. *Investiga porque no existe Anemias hipercromicas*
5. *¿Si el valor de la HCM está dentro del rango de referencia que tipo de anemia es?*

Interferencias

1. *La hiperlipidemia eleva en forma falsa la hemoglobina corpuscular media.*
2. *La cuenta eritrocitaria mayor a 50,000/mm³ eleva en forma artificial el valor de la hemoglobina, que a su vez eleva en forma artificial la hemoglobina corpuscular media.*
3. *Las altas concentraciones de heparina elevan en forma artificial la hemoglobina corpuscular media.*

Valores de referencia

- 27 a 31 pg

Material, reactivos y equipo

No aplica



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	99 / 140

Técnica

Con los datos obtenidos en la práctica de hemoglobina y glóbulos rojos se aplica la fórmula arriba mencionada.

Los resultados solo son confiables cuando se obtienen a través de un clitómetro de flujo.

Resultados

Interpretación de los resultados obtenidos

Cuestionario

1. ¿Qué utilidad clínica tiene la determinación de la HCM?
2. ¿Qué indica un valor por debajo de los valores de referencia de la HCM?
3. ¿Qué indica un valor dentro de los valores de referencia de la HCM?
4. ¿Qué indica un valor por encima de los valores de referencia de la HCM?
5. ¿Qué índices eritrocitarios indican el color de los eritrocitos?

Referencias

- Jacques Wallach; 2002; Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio; Barcelona, Editorial: Masson
- Kolman – Ohm; 2004; Bioquímica texto y atlas; Buenos Aires Argentina, Editorial: Panamericana
- Thomas M. Devlin; 2007 Bioquímica texto y aplicaciones clínicas, España; Editorial: Reverté, S. A.
- Guillermo Ruíz Reyes; 2004; Fundamentos de interpretación Clínica de los exámenes de Laboratorio; México; Editorial Médica Panamericana.
- Michael L. Bishop; 2007; Química Clínica principios, procedimientos y correlaciones; México; Editorial: Mc. Graw Hill.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	100 / 140

Volumen corpuscular medio (VCM o MCV)

Objetivo

- Determinar con los resultados obtenidos en hematocrito y el número de eritrocitos (RBC) por milímetro cúbico el tamaño de las células sanguíneas.

Generalidades

El mejor índice para calcular las anemias es el tamaño de cada célula. Este índice expresa el volumen que ocupa un sólo eritrocito y se mide en micras cúbicas (μ^3) del volumen medio. El volumen corpuscular medio indica si el tamaño del eritrocito es normal, pequeño o grande.

El volumen de los eritrocitos se calcula a partir del número de eritrocitos por milímetro cúbico de sangre y el hematocrito y se expresa como porcentaje, utilizando la siguiente fórmula.

$$VCM = \frac{HCT \%}{RBC (10^{12}/L)} \times 10$$

Significado clínico

Los resultados del VCM constituyen la base para clasificar una anemia.

- El VCM disminuye en:
 - Ferropenia
 - Talasemia
- El VCM aumenta en:
 - Carencias de vitamina B_{12} o ácido fólico
 - Hepatopatías crónicas
 - Reticulocitosis

Interferencias

- La combinación de VCM bajo y alto da como resultado un VCM normal.
- El VCM aumenta si se elevan los reticulocitos.

Valores de referencia

- 82 a 98 femtolitros (fL)

Material, reactivos y equipo

No aplica

Técnica

Con los datos obtenidos en la práctica de hemoglobina y glóbulos rojos se aplica la fórmula arriba mencionada.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	101 / 140

Resultados

Interpretación de los resultados obtenidos

Cuestionario

- ¿Qué utilidad clínica tiene la determinación del VCM?
- ¿Qué indica un valor de VCM por debajo de los valores de referencia?
- ¿Qué indica un valor de VCM dentro de los valores de referencia?
- ¿Qué indica un valor de VCM encima de los valores de referencia?
- Con los datos siguientes, calcule el VCM, HCM y CHCM
 - Hct = 41.8%
 - Hb = 14.5 g/dL
 - GR = $4.86 \times 10^6/\text{mm}^3$
- Interprete los resultados obtenidos en el caso anterior, clasificando el tipo de anemia si es que existiera.
- Interpreta los siguientes datos de los índices eritrocitarios, y clasifica el tipo de anemia que se trata
 - VCM = 129.2 fl
 - HCM = 40.9 pg.
 - CHCN = 31.6 g/dL

Referencias

- Jacques Wallach; 2002; Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio; Barcelona, Editorial: Masson
- Kolman – Ohm; 2004; Bioquímica texto y atlas; Buenos Aires Argentina, Editorial: Panamericana
- Thomas M. Devlin; 2007 Bioquímica texto y aplicaciones clínicas, España; Editorial: Reverté, S. A.
- Guillermo Ruíz Reyes; 2004; Fundamentos de interpretación Clínica de los exámenes de Laboratorio; México; Editorial Médica Panamericana.
- Michael L. Bishop; 2007; Química Clínica principios, procedimientos y correlaciones; México; Editorial: Mc. Graw Hill.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	102 / 140

Fosfatasa Alcalina (ALP)

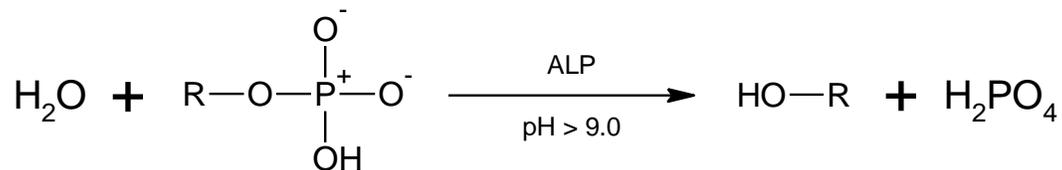
Objetivos

- Determinar la concentración de la fosfatasa alcalina.
- 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.

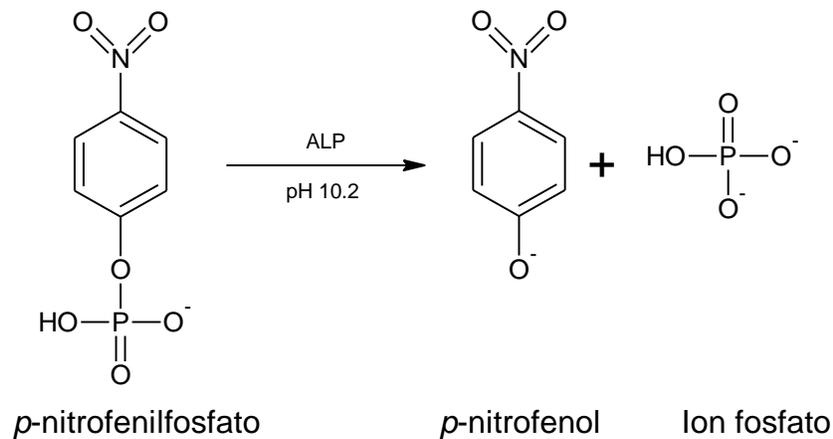


Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	103 / 140

Placenta Es la isoenzima más termoestable, resiste la desnaturalización térmica por 30 minutos a 65° C, le siguen en estabilidad las isoenzimas intestinal, hepática y ósea.

Principio de la Reacción

Existen diversos métodos para el análisis de la fosfatasa alcalina. En los más antiguos se empleaban distintos sustratos y amortiguadores hasta que se determinaba qué amortiguador y qué sustrato eran los óptimos. Debido a que se desconocen los sustratos fisiológicos de la ALP, en casi todos los análisis de estas enzimas se utiliza el *p*-nitrofenilfosfato (*p*-NPP), ya que el *p*-NPP es incoloro y una vez hidrolizado produce un color amarillo.



Fuentes de Error

La hemólisis puede causar ligeros incrementos porque la ALP está concentrada alrededor de seis veces más en los eritrocitos que en el suero. Los ensayos de ALP se deben ejecutar lo más pronto posible después de la recolección. La actividad en suero se incrementa casi 3 a 10% si se mantiene a 25 o 4° C durante varias horas. La dieta puede inducir incrementos en la actividad de ALP en individuos del grupo sanguíneo B u O que son secretores. Los valores pueden ser 25% más altos después de la ingestión de una comida con alto contenido de grasas.

Material, reactivos y equipo

Material

Suero o plasma

Anticoagulante heparina



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	104 / 140

Reactivos

Reactivo 1	Dietanolamina (DEA) pH 10.4	1 mmol/L
Tampón	Cloruro de magnesio	0.5 mmol/L
Reactivo 2	p-nitrofenilfosfato (pNPP)	10 mmol/L
Sustrato		

Equipo

Espectrofotómetro

Estufa a 37 °C

Celdas de 1cm de paso de luz

Servicios. No aplica

Técnica

1.- Condiciones de ensayo

Longitud de onda405 nm

Temperatura 37° C

2.- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada

3.-Pipetear en una cubeta

Reactivo de trabajo (mL)	1.2
Muestra (µL)	20

4. Mezclar, y leer al minuto, a los 2 y 3 minutos

5. Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$)

Cálculos

$$\Delta A/\text{min} \times 3300 = \text{U/L de FAL}$$

Rangos de Referencia

Edad	U/L
Adulto	35-100
Pediátricos y adolescentes	70-300

Resultados

Interpretación de los resultados obtenidos



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	105 / 140

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

- Bernard, HJ. Todd-Sanford-Davidsohn Diagnóstico y Tratamiento Clínicos por el Laboratorio. 8ª Ed. Salvat, España 1988.
- Bishop, ML. Química Clínica; Principios, procedimientos y correlaciones. 5ª Ed. McGraw-Hill, México 2006.
- Fuentes, AX. Castiñeiras, LMJ. y ferré, MM. Códex del Laboratorio Clínico; indicaciones e interpretación de los exámenes de laboratorio. Elsevier. España 2003.
- Kim, E.E., Wyckoff, W. Alkaline Phosphatase [en línea] RCSB, Protein Data Bank [fecha de consulta: 11 de mayo 2008]. Disponible en <<http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=1ALK>>



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	106 / 140

Cuantificación de calcio en suero

Objetivos

- Cuantificar la concentración de calcio en suero 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 hidroxipatita; 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, exocitosis, contracción muscular y estabilidad de las membranas plasmáticas. Se encuentra en forma ionizada (47 a 50%), unido a proteínas (40 a 66%), albúmina, ante todo, y formando complejos de citrato o fosfato (5 a 10%). La forma ionizada es la de mayor importancia fisiológica.

Significado clínico

Una 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. Se encuentra en concentraciones elevadas de calcio en orina en nefrolitiasis, acidosis metabólica, hiperparatiroidismo primario, acidosis tubular renal, Síndrome de Fanconi, enfermedad de Paget.

Una 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.

Principio de la reacción

La medición del calcio 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

Material, reactivos y equipo

Material

Suero o plasma libre de hemólisis
Anticoagulante EDTA 5 %



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	107 / 140

Reactivos

Reactivo 1 Tampón	Etanolamina	500 mmol/L
Reactivo 2 Cromógeno	α -Cresolftaleína 8-Hidroxiquinoleína	0.62 mmol/L 69 mmol/L
Calcio calibrador	Patrón primario acuoso de Calcio	10 mg/dL.

Equipo

Espectrofotómetro
Estufa a 37° C
Celdas de 1cm de pasó de luz

Servicios. No aplica

Técnica

1.-Condiciones de ensayo

Longitud de onda 570 nm
Temperatura 37°C

2.- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada

3.-Pipetear en una cubeta

	Blanco	Patrón	Muestra
Reactivo 1 (mL)	2.0	2.0	2.0
Reactivo 2 gotas	1	1	1
Patrón (μ L)	-	20	-
Muestra	-	-	20

4.-Mezclar e incubar 5 minutos a 37° C

5.-Leer la absorbancia(A) del patrón y la muestra frente al blanco del reactivo .El color es estable como mínimo 40 minutos.

Cálculos

$(A) \text{ Muestra} \times 10 (\text{conc. Patrón}) = \text{mg/dL de calcio en la muestra}$
 $(A) \text{ Patrón}$

Rangos de referencia

Suero o plasma

Adultos 8.5 a 10.5 mg/dL
Niños 10 a 12 mg/dL
Recién nacidos 8.0 a 13 mg/dL



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	108 / 140

Resultados

Interpretación de los resultados obtenidos

Cuestionario

1. Explica la regulación de la síntesis y secreción de PTH, calcitonina y $1,25(\text{OH})_2$ vitamina D y su función.
2. Explica en que consiste la enfermedad de Paget.
3. Explica las causas de hipercalcemia.
4. Explica la importancia del calcio en los procesos biológicos
5. Investiga que hormonas participan en el metabolismo del calcio y cual es su función.

Referencias

- Murray, Robert K., 2010. Bioquímica ilustrada. México D.F.:McGrawHill
- Dorantes Cuellar, Alicia., 2012. Endocrinología clínica. México, D.F.:Manual Moderno



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	109 / 140

Cuantificación de cloro en plasma

Objetivos

- Cuantificar la cantidad de cloruro en plasma como coadyuvante en el diagnóstico de las causas de hipercloremia o hipocloremia.
- Interpretar 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 (CO₂) 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:

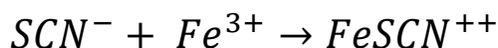
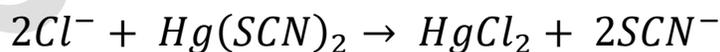
- El vómito causa la baja del cloro y conduce a la alcalosis.
- En la fístula duodenal, la pérdida del jugo pancreático lleva a la acidosis por la fuga de HCO₃⁻ y el catión Na⁺
- En la diarrea intensa con pérdida de las secreciones pancreáticas o intestinales también se pierde agua, Na⁺ y HCO₃⁻

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.

Principio de la reacción.

Los iones cloro 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.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	110 / 140

Material, reactivos y equipo

Material.

Suero o plasma libre de hemólisis

Reactivos

Reactivo Tiocianato-Hg	Tiocianato de mercurio	4 mmol/L
	Nitrato de hierro	40 mmol/L
	Nitrato de mercurio	2 mmol/L
	Ácido nítrico	45 mmol/L
Cloruro Calibrador	Patrón primario acuoso de cloruros 125 mmol/L	

Equipo

Espectrofotómetro

Estufa a 37° C

Celdas de 1cm de pasó de luz

Servicios. No aplica

Técnica

1.-Condiciones de ensayo

Longitud de onda 480 nm

Temperatura 37°C

2.- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada

3.-Pipetear en una cubeta

	Blanco	Patrón	Muestra
Reactivo de trabajo (ml)	1.0	1.0	1.0
Patrón (µL)	-	10	-
Muestra (µL)	-	-	10

4.-Mezclar e incubar 5 minutos a 37° C

5.-Leer la absorbancia(A) del patrón y la muestra frente al blanco del reactivo .El color es estable como mínimo 30 minutos.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	111 / 140

Cálculos

(B) $\text{Muestra} \times 125$ (conc. Patrón)= mmol/L de iones cloruro.

(A) Patrón

Rangos de referencia

Suero o plasma 95 a 115 mmol/L

Resultados

Interpretación de los resultados obtenidos

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

- Murray, Robert K., 2010., *Bioquímica ilustrada*. Mexico, D.F.:McrawHill
- Harper., 2004. *Bioquímica ilustrada*. México, D. F.:Manual Moderno
- Laguna, José., 2009. *Bioquímica de Laguna*. México, D.F.: Manual Moderno
- Salcedo Posadas, A., García Novo, M. D., 1998. *Biología Genética y Molecular*. México, D.F.: Ediciones Díaz de Santos



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	112 / 140

Fosfatasa Ácida (ACP)

Objetivos

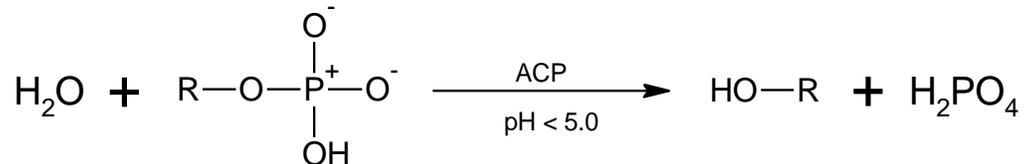
- Determinar la concentración de la fosfatasa ácida
- Interpretar el resultado relacionándolo con las patologías más comunes.

Generalidades

La fosfatasa ácida (**FAC**) es una enzima hidrolítica segregada por diversas células, y tiene cinco isoenzimas de las cuales la fosfatasa ácida que se encuentra en el semen (prostática) es la que representa la mayor cantidad por gramo de tejido (hasta 1000 veces superior a otras fuentes); las otras fuentes de ACP son, en orden decreciente de concentración:

- Hígado
- Huesos (osteoclastos)
- Eritrocitos
- Riñón

Debe su nombre a que para su función se requiere de un pH ácido, siendo el alrededor de 5, según el comité de enzimología la clave que le corresponde es la E.C. 3.1.3.2, la reacción es la siguiente:



Las isoenzimas pueden ser resistentes al tartrato o cobre, la fracción prostática resistente al tartrato (PAP) se utiliza junto con el **Antígeno Prostático Específico (PSA)** para el diagnóstico o seguimiento de problemas prostáticos tales como la recidiva después de una prostatectomía como tratamiento radical en cáncer prostático.

Se encuentra elevado en:

- Cáncer de próstata
- Enfermedad de Gaucher y enfermedad de Niemann-Pick
- Tras la cirugía o biopsia prostática
- Manipulación prostática o sondaje vesical
- Hiperplasia prostática benigna, prostatitis o infarto prostático
- Muestras vaginales de víctimas de violación

La PAP junto con el Antígeno Prostático Específico (PSA) constituyen los clásicos marcadores tumorales para la próstata. Sin embargo, hoy en día se hace recomendable el uso del PSA más que del PAP.

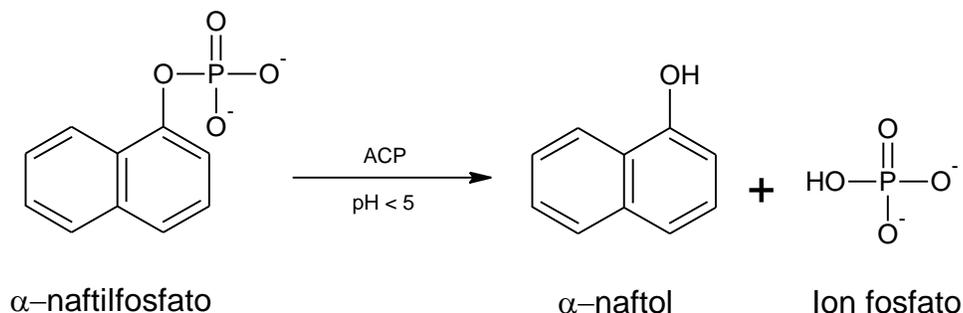
Principio de la Reacción

Existen una gran variedad de reacciones para la cuantificación de la ACP, existiendo estudios de correlación entre el método de monofosfato de timolftaleína con RIA, EIA y ELISA. Sin embargo el

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	113 / 140

método de referencia es la técnica de Roy y colaboradores modificado por Ewen, donde se mide todas las isoenzimas pero reaccionando preferentemente la fracción prostática.

En los métodos más comerciales, la ACP a pH 5 hidroliza el α -naftilfosfato a α -naftol que a su vez reacciona con un cromógeno diazotado formando un complejo cuyo pico de absorción es a 405 nm.



Uno de los sustratos más específicos para ACP prostática es el monofosfato de timoltaleína. Utilizándose para ello un inhibidor químico, éste actuará sobre la fracción prostática de la ACP, el más adecuado es el L-tartrato, por lo tanto al realizar dos mediciones, una determinará la ACP total y la segunda la fracción resistente al L-tartrato, por lo que la diferencia entre ellos nos dará la fracción prostática de la ACP.

Para determinar la ACP fracción prostática se utiliza la fórmula:

$$ACP_P = ACP_T - ACP_{RT}$$

Donde:

- ACP_P = Fosfatasa ácida prostática
- ACP_T = Fosfatasa ácida total
- ACP_{RT} = Fosfatasa ácida resistente al tartrato

Fuentes de Error

- La hemólisis interfiere debido a la elevada concentración de fosfatasa ácida presente en los hematíes.
- El oxalato y heparina inhiben la actividad de ACP.
- Debido a la liberación de ACP de las plaquetas en la formación del coágulo, los valores en suero son ligeramente mayores.
- Las muestras deben ser centrifugadas y separadas inmediatamente del paquete de glóbulos pues la ACP es inestable a pH 7.

Material, reactivos y equipo

Material

Suero no usar plasma



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	114 / 140

Reactivos

Reactivo 1 Tampón	Citrato sódico pH 5.2	50 mmol/L
Reactivo 2 Sustrato	Alfa-naftilfosfato Fas Red TR	10 mmol/L 6 mmol/L
Reactivo 3 Tartrato	Tartrato sódico	2 mmol/L
Reactivo 4	Ácido acético	0.5 mol/L

Equipo

Espectrofotómetro

Estufa a 37 °C

Celdas de 1cm de paso de luz

Servicios. No aplica

Técnica

1.- Condiciones de ensayo

Longitud de onda405 nm

Temperatura constante 37°C

2.- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada

3.-Pipetear en una cubeta

	FAC Total (T)	FAC No Prostática (No P)
Reactivo de trabajo (mL)	1.0	1.0
Reactivo 3 (µL)	-	10
Muestra (µL)	100	100

4. Mezclar, y leer al minuto, a los 2 y 3 minutos

5. Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto (Delta A/min)

Cálculos

$$\Delta A/\text{min} \times 750 = \text{U/L de FAC (T)}$$

$$\Delta A/\text{min} \times 750 = \text{U/L de FAC (No P)}$$

$$\text{U/L de FAC (T)} - \text{U/L de FAC (No P)} = \text{U/L de FAC Prostática}$$

Rangos de Referencia

Tipo	Unidades
Fosfatasa ácida total	0.5-1.0 U/L
Fosfatasa ácida prostática	< 2.5 µg/L



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	115 / 140

Resultados

Interpretación de los resultados obtenidos

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

1. Kaplan LA, Pesce A, Kazmierczak S. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation*. 4a ed. Mosby; 2002.
2. Moul JW, Connelly RR, Perahia B, Mcleod DG. The contemporary value of pretreatment prostatic acid phosphatase to predict pathological stage and recurrence in radical prostatectomy cases. *The Journal of Urology*. Marzo de 1998; 159(3):935-40.
3. Pesce, AJ, Kaplan, L. *Química Clínica: Métodos*. 1a ed. Argentina: Editorial Médica Panamericana; 1991.
4. Williamson, MA, Snyder, ML. *Wallach: Interpretación clínica de pruebas diagnósticas*. 9a ed. Philadelphia, PA: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins; 2012.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	116 / 140

CRITERIOS DE EVALUACION

Se conforma de dos partes, la parte práctica que equivale al 30% del total de la evaluación, y corresponde de forma general:

- *Reporte de la práctica,*
- *Resolución de los cuestionarios publicados en el block*
- *Participación en el desarrollo de la práctica*
- *Evaluación previa a la práctica*

Y el 70 % restante corresponde a la parte teórica de seminario a través del examen de bloque

NOTA:

- *Para tener derecho a examen ordinario el alumno deberá tener como mínimo un 80 % de asistencia a las prácticas de laboratorio.*
- *El alumno que no apruebe el laboratorio está reprobado en teoría*



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	117 / 140

REGLAMENTO GENERAL DEL LABORATORIO DE BIOQUIMICA

- *La tolerancia para el ingreso al laboratorio será de 10 minutos, después de este tiempo no se permitirá el ingreso a ningún alumno. El profesor responsable del seminario pasará lista al grupo.*
- *Se formarán equipos por orden alfabético colocándose 10 alumnos en cada mesa. Una vez distribuidos no habrá cambios de mesa.*
- *Dentro del laboratorio es obligatorio el uso de bata, la cual deberá estar correctamente abotonada. No se permitirá el trabajo ni la permanencia de los alumnos sin bata durante las sesiones de trabajo en el laboratorio.*
- *Esta estrictamente prohibido fumar e ingerir alimentos dentro del laboratorio.*
- *Se hará un examen previo de cada práctica sobre el tema en cuestión antes de empezar el seminario para ello el profesor responsable de la práctica subirá con antelación la información correspondiente blog : medicina-zaragoza.blogspot.com*
- *Cada equipo de alumnos es responsable del material, de la limpieza del mismo y de la mesa de trabajo que utilicen durante las prácticas.*
- *La puerta del laboratorio permanecerá siempre cerrada mientras se lleven a cabo las prácticas.*
- *Quedan estrictamente prohibidas las visitas dentro del laboratorio de personas ajenas.*
- *Al inicio de año se programaran las sesiones prácticas, seminarios y exámenes finales de acuerdo con el calendario oficial vigente y serán publicados en un lugar visible.*
- *En caso de suspensión de alguna de las prácticas por una causa de fuerza mayor, esta será reprogramada por los profesores.*
- *Ningún alumno podrá retirarse si la sesión práctica no ha concluido. Únicamente con la autorización del profesor.*
- *Los alumnos informaran de cualquier eventualidad a los profesores de laboratorio para que ellos atiendan y resuelvan el imprevisto.*
- *Los alumnos no podrán trabajar solos en la sesión práctica, siempre deberán estar acompañados por algún profesor de laboratorio.*



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	118 / 140

MANEJO DE RESIDUOS BIOLÓGICO-INFECCIOSOS

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

Objetivos

- Entender de manera clara la NOM-087 –Ecol-SSA1-2002
- Enlistar las normas aplicables al trabajo dentro del laboratorio.
- Aplicar las normas vigentes relacionadas al trabajo en el laboratorio de bioquímica

La Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente, define como residuos peligrosos a todos aquellos residuos que por sus características corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas, inflamables y biológico-infecciosas, representan un peligro para el equilibrio ecológico o el ambiente; mismos que serán manejados en términos de la propia ley, su Reglamento y normas oficiales mexicanas que expida la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales previa opinión de diversas dependencias que tengan alguna injerencia en la materia, correspondiéndole a la citada SEMARNAT su regulación y control.

La presente Norma Oficial Mexicana (NOM) 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 a sus características biológicas y estado físico, tal como se muestra en la siguiente tabla.

Tipo de residuo	Estado físico	Recipiente	Color
Sangre	Líquido	Recipientes herméticos	Rojo
Cultivos y cepas de agentes infecciosos	Sólidos	Bolsa de polietileno	Rojo
Patológicos	Sólido	Bolsa de polietileno	Amarillo
	Líquido	Recipientes herméticos	Amarillo
Residuos no anatómicos	Sólido	Bolsa de polietileno	Rojo
	Líquido	Recipientes herméticos	Rojo
Objetos punzocortantes	Sólidos	Recipientes rígidos	Rojo



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	119 / 140

Para fines prácticos, en el laboratorio de bioquímica se tendrán los siguientes recipientes y los residuos a depositar

Contenedor rígido	Bolsa roja ⁵	Bolsa negra ⁶
Agujas	Gasas	Empaques de jeringas
Aplicadores	Guantes	Jeringas
Capilares	Tapones de tubo	Protectores de agujas
Jeringas	Torundas	Tapones de tubo
Lancetas		Tubos
Portaobjetos		
Tubos rotos		

Recordar que...

Sin importar el tipo de recipiente, se debe llevar hasta un máximo del 80% de su capacidad

Inactivación de muestras

Cuando se carezca de recipientes herméticos y se tengan que desechar tubos con sangre, ya sea anti coagulada o coagulada, o bien cuando se trate de otro fluido, éstos deberán ser inactivados antes de ser eliminados, para lo cual se utiliza una solución de hipoclorito de sodio al 0.5%, se vierte el contenido del tubo y se deja por unos 30 minutos, transcurrido este tiempo se desecha por el desagüe, hay que considerar que para evitar que los posibles coágulos tapen la cañería, debe hacerse pasar el contenido inactivado por un colador. El tubo así podrá ser desechado a la basura municipal y los restos de coágulos serán envueltos en papel periódico y desechados a la bolsa roja.

Normas relacionadas

- NOM-015-SSA2-1994, para la prevención, tratamiento y control de la diabetes
- NOM-017-SSA1-1993, que establece las especificaciones sanitarias de los reactivos hemoclasificadores para determinar grupos de sistema ABO
- NOM-018-SSA1-1993, que establece las especificaciones sanitarias del reactivo anti RH para identificar el antígeno D
- NOM-019-SSA1-1993, que establece las especificaciones sanitarias del reactivo antiglobulina humana para la prueba de coombs
- NOM-030-SSA2-1999, para la prevención, tratamiento y control de la hipertensión arterial
- NOM-037-SSA2-2002, para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias
- NOM-064-SSA1-1993, que establece las especificaciones sanitarias de los equipos de reactivos utilizados para diagnóstico
- NOM-166-SSA1-1997, para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos
- NOM-174-SSA1-1998, para el manejo integral de la obesidad

⁵ Objetos contaminados con fluidos biológicos.

⁶ Objetos no contaminados con fluidos biológicos o inactivados.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	120 / 140

Referencias

- Moto, SE., 1978. Elementos de derecho, México: Editorial Porrúa.
- Floresgómez, GF. y Carbajal, MG., 2007. Nociones de Derecho Positivo Mexicano, México: Editorial Porrúa.
- Secretaria de Salud, 2009. NOM-087-Ecol-SSA1-2002. [On line] Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/087ecolssa.html>[Acceso 16 de noviembre 2009]
- Moran Villatoro, L., 2001. Obtención de muestras sanguíneas de calidad analítica: mejoría continua de la etapa preanalítica, México: Medica Panamericana.
- Secretaria de Salud, 2009. Listado de Normas Oficiales Mexicanas de la Secretaria de Salud. [On line] Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nomssa.html> [Acceso 16 de noviembre 2009]

CONCESIÓN



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	121 / 140

Anexos

Anexo 1: Material de Laboratorio

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.

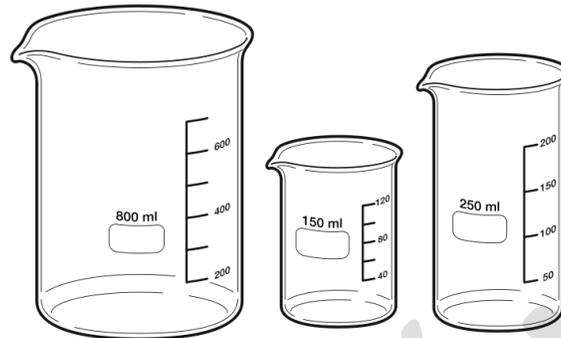
- **Material para Contener (To Contain → TC):** Este tipo de material agrupa a los recipientes que se emplean para contener o almacenar líquidos, soluciones o productos de reacciones como precipitados o cristales. Algunos pueden ser fabricados para contener volúmenes exactos sin posibilidad de medir volúmenes diversos, a esta categoría pertenecen:
 - **Vasos de precipitados**
 - **Tubos de Ensayo**
 - **Matraz Erlenmeyer**
 - **Matraz Aforado**
- **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.

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	122 / 140



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, etc.

Matraz Aforado

También conocidos 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.





Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	123 / 140

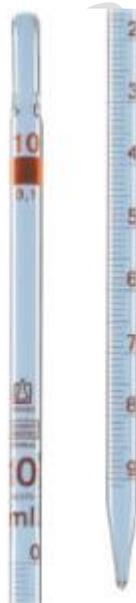
El matraz aforado se utiliza para preparar soluciones estándar o de concentración exacta y para diluir muestras. La tolerancia va de 0.02 a 0.5 mL según la capacidad del matraz, a mayor volumen mayor tolerancia.

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.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	124 / 140



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 buretas, por lo que se debe utilizar para preparar soluciones cuya exactitud no sea un factor determinante.

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	125 / 140



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.

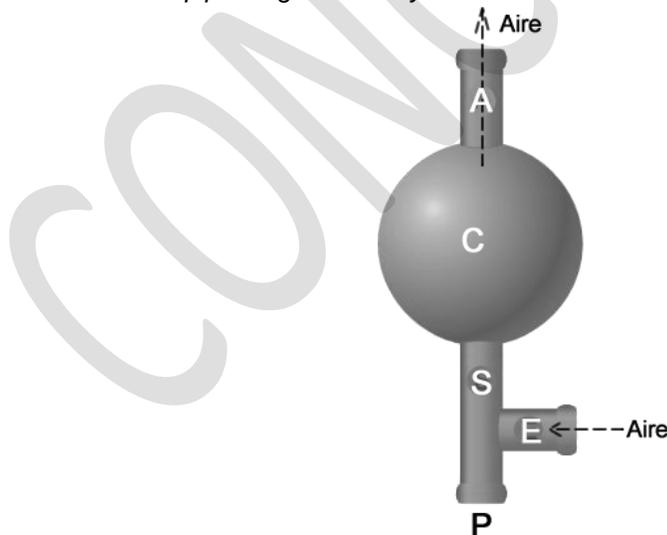


Figura de una propipeta mostrando las zonas utilizadas; **A** = Aspirate (aspirar); **C** = Zona central; **S** = Suck up (succionar); **E** = Empty (vaciar) y **P** = Pipeta así como el flujo de aire.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	126 / 140

La técnica de uso es la siguiente:

1. Se coloca en 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.

Referencias

- Rivas, MJ. 2003. *Introducción al trabajo de laboratorio*. México, D.F.: Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	127 / 140

Anexo 2: Preparación de Soluciones Porcentuales (%)

Generalidades

Una solución (o disolución) es una mezcla homogénea de una o más sustancias cuyos componentes se encuentran en ciertas proporciones en iguales o distintos estados físicos, esta propiedad permite observar a los componentes como un todo o, dicho de otra manera, son miscibles.

Los componentes de las disoluciones son el soluto y el solvente, siendo el primero aquella o aquellas sustancias que se encuentran en menor proporción respecto al medio dispersante o disolvente.

Otra característica de las soluciones es la concentración, que se refiere a la cantidad de soluto disperso o disuelto en el disolvente,

Características

Las soluciones poseen como características ineludibles:

- Homogeneidad.
- Miscibilidad
- Uniformidad.
- Estabilidad.
- Puede expresarse en términos de su concentración

Tipos de soluciones

Las soluciones podrán ser clasificadas de acuerdo a ciertas características:

- Por su estado de agregación.
- Por su concentración.
 - Cualitativas
 - Diluidas
 - Concentradas
 - Saturadas
 - Cuantitativas
 - Porcentuales (%)
 - Masa/masa (**m/m** o **p/p**)
 - Masa/volumen (**m/v** o **p/v**)
 - Volumen/volumen (**v/v**)
 - Partes por millón (**ppm**)
 - Molar (**M**)
 - Normal (**N**)
 - Molal (**m**)
 - Osmolar (**Osm**)



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	128 / 140

Disoluciones cuantitativas

Este tipo de soluciones son las más empleadas en química, pues nos proporciona información matemática de la concentración del soluto disperso o disuelto en el solvente.

De acuerdo al grado de precisión con la cual se mida o pesen los componentes o a las características del soluto, estas se clasifican en:

- Porcentuales (%)
 - Peso/peso (m/m o p/p)
 - Peso/volumen (m/v o p/v)
 - Volumen/volumen (v/v)
- Partes por millón (**ppm**)
- Molaridad (**M**).
- Normalidad (**N**)
- Molalidad (**m**)
- Osmolar (**Osm**)

Recordar que...

Es importante mencionar que las soluciones cualitativas también son conocidas como **soluciones empíricas**, mientras que las cualitativas pueden llamarse **soluciones físicas** a las porcentuales o **soluciones químicas** al resto.

Soluciones porcentuales

Las soluciones porcentuales son aquellas cuya medida es la cantidad de gramos (g) o mililitros (mL) de soluto encontrados en 100 gramos o mililitros de **solución**, no de disolvente.

Las fórmulas empleadas para calcular la concentración porcentual del soluto son las siguientes:

Peso/Peso

$$\%(p/p) = \frac{\text{masa del soluto}}{\text{masa de la solución}} \times 100$$

Peso/volumen

$$\%(p/v) = \frac{\text{masa del soluto}}{\text{volumen de la solución}} \times 100$$

Volumen/volumen

$$\%(v/v) = \frac{\text{volumen del soluto}}{\text{volumen de la solución}} \times 100$$

Sin embargo, generalmente en la práctica lo que se desea es preparar una solución a **X** concentración porcentual, para ello se procede al despeje de la fórmula correspondiente.

Otro método que puede utilizarse, cuando la memoria falla, es el uso de las famosas **reglas de tres**, para el empleo de éstas se debe considerar lo siguiente:



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	129 / 140

- Toda solución parte de la premisa de 100 mL o gramos de solución.
- Ajustar la cantidad de soluto al volumen o masa deseada de solución, sin importar sea diferente de 100.

Problema

- En cierto experimento se requiere preparar 250 g de una solución al 23.3% de glucosa.
 - ¿Qué tipo de solución es?
 - ¿Qué cantidad de glucosa se requiere?
 - ¿Cuántos gramos de agua se necesita?

Respuestas

- Lo que primero debemos identificar es que se trata de una solución porcentual **peso/peso**, ya que tanto soluto como la disolución deben ser pesados y no medidos.
- Tomando en cuenta el inciso **(a)**, tenemos que una solución al 23.3% de una solución porcentual peso/peso, en este caso, tiene 23.3 gramos por cada 100 g de solución, por lo tanto aplicamos el inciso **(b)**.

$$\frac{23.3 \text{ g de soluto}}{X \text{ g}} = \frac{100 \text{ g de solución}}{250 \text{ g}} \rightarrow X = 58.0 \text{ g}$$

- Debido a que se trata de una solución peso/peso, restamos el peso del soluto al peso de la solución:

$$250 \text{ g} - X \text{ g} = 250 - 58.0 \text{ g} = 192 \text{ g de agua}$$

Recordar que...

Se sigue el mismo procedimiento para una solución porcentual volumen/volumen.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	130 / 140

Anexo 3: Espectrofotómetro

Objetivos

- Conocer los componentes básicos de un espectrofotómetro.
- Familiarizarse con el uso y ajuste del espectrofotómetro.
- Conocer los cuidados del instrumento.

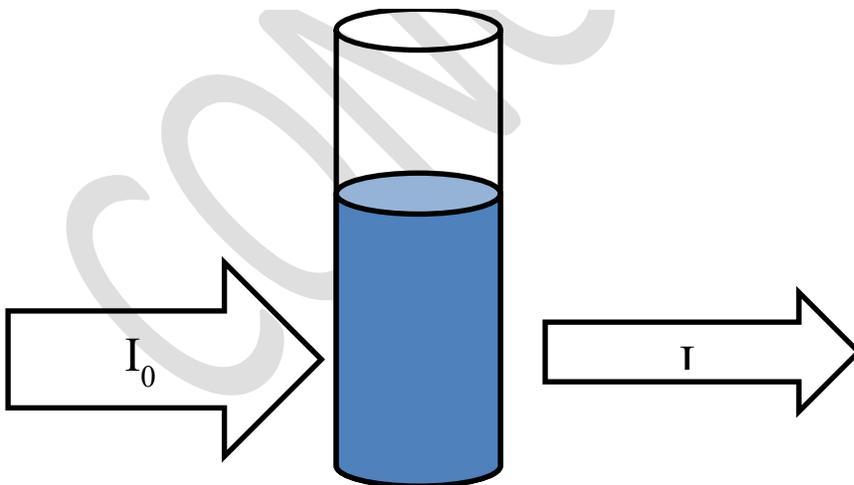
Generalidades

Las técnicas espectrofotométricas se basan en la interacción de las radiaciones electromagnéticas con la materia, en los laboratorios de bioquímica, las principales técnicas son:

- Absorción molecular en el ultravioleta (uv) y en el visible (vis).
- Fluorimetría.
- Turbidimetría.
- Nefelometría.
- Luminometría.
- Espectrometría de absorción y de emisión atómica.

Sin embargo en los laboratorios de rutina el espectrofotómetro más utilizado es el de absorción molecular, el cual se basa en la absorción por las moléculas dispersas en un medio adecuado, de las radiaciones comprendidas entre el ultravioleta y el espectro visible (uv-vis) del espectro electromagnético.

La absorción de las radiaciones electromagnéticas por las disoluciones se rige por la **Ley de Lambert-Beer**, que relaciona la intensidad de la luz incidente I_0 y la de la luz transmitida I , cuando un rayo de luz atraviesa la longitud l de un medio que absorbe.



En espectroscopia de absorción molecular se basa en la medida de la transmitancia (T) o de la absorbancia (A) de disoluciones que se encuentran entre la luz incidente y la luz transmitida.

La ecuación que determina esta relación es:

$$A = -\log T = \log \frac{I_0}{I}$$

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	131 / 140

De acuerdo a la ley de Lambert-Beer la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de la sustancia estudiada.

Los espectrofotómetros están constituidos por:

- **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.
- **Sistema de selección de longitud de onda (monocromador):** Se utiliza para filtrar la longitud de onda requerida para la medición.
- **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.
- **Detector de luz:** Convierten la energía radiante en energía eléctrica.
- **Dispositivo de lectura:** La energía eléctrica procedente del detector, se presenta en una pantalla ya sea de manera analógica o digital.

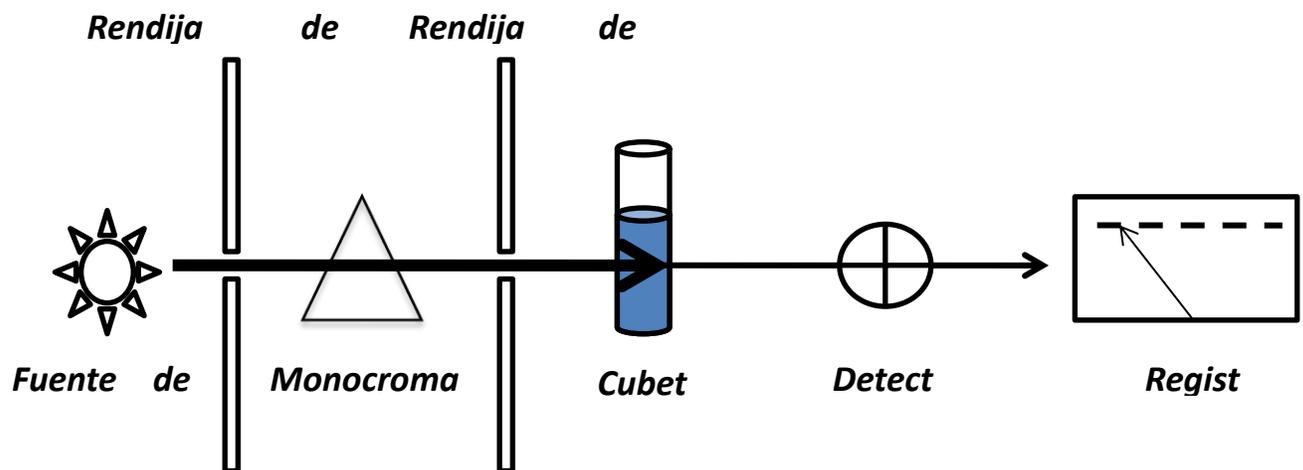


Figura 1.- Esquema de un espectrofotómetro.

Al ejecutar por lo menos las siguientes comprobaciones se puede validar la óptima funcionalidad del espectrofotómetro:

- **Exactitud de la longitud de onda (λ):** Quiere decir que la longitud de onda (λ) que está indicada en la carátula o pantalla del instrumento es la λ real que pasa por el monocromador, para esto se emplea comúnmente soluciones (anaranjado de metilo) o filtros (de didimio u óxido de holmio) con absorción máxima de la λ conocida.
- **Luz parásita:** Se refiere a cualquier λ fuera de la banda que transmite el monocromador. Las causas más comunes de luz parásita es la luz que reflejan las celdas o cubetas cuando



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	132 / 140

se encuentran sucias, rayadas o estrelladas, o bien por las partículas de polvo que pudiera encontrar, la luz seleccionada, durante su trayectoria al medio.

- **Linealidad:** Se demuestra cuando existe un cambio en la concentración en una curva de calibración recta, para esto se utiliza una serie de soluciones de concentración conocida de anaranjado de metilo.

Ajuste del Espectrofotómetro

Es importante seguir las indicaciones del manual de usuario del equipo para un mejor funcionamiento, sin embargo, en términos generales se deberá hacer lo siguiente.

1. Encender el equipo y dejar calentar por lo menos 15 minutos (sí el aparato es automático, dará una señal cuando esté listo para funcionar).
2. Seleccionar la longitud de onda deseada.
3. Se selecciona la función **Absorbancia** o **Transmitancia**, según las necesidades.
4. Se ajusta a 0% de absorbancia y 100% de transmitancia.

Cuidados del Espectrofotómetro

- a) Coloque el instrumento en un lugar en donde no haya vibraciones, calor, humedad o luz excesiva.
- b) Proteja el instrumento del polvo.
- c) Permita que el instrumento se caliente antes de hacer algún procedimiento.
- d) Verifique el 0 de Absorbancia y el 100% Transmitancia cada vez que se vaya a hacer lecturas y cuando varíe la longitud de onda.
- e) Cada vez que se usen las cubetas cuidar que estén limpias y libres de ralladuras, polvo y huellas digitales.

Uso del espectrofotómetro GENESYS-20

- Conectar el cable a la corriente eléctrica.
- Encender el equipo
- Dejar calentar 5 minutos o hasta que aparezca en la pantalla la indicación de longitud de onda.
- Seleccione la longitud de onda (λ) con las teclas \blacktriangledown \blacktriangle , el rango operativo es de 325 a 1100 nm.
- Seleccione el tipo de lectura **Absorbancia/Transmitancia/Concentración** mediante el botón **A/T/C**, en las prácticas de laboratorio utilizaremos **Absorbancia**.
- Insertar el **Blanco** y oprima la tecla **0 ABS / 100% T**.
- Cambie el blanco por la solución problema o estándar.
- Observar la lectura en la pantalla.
- Debe ser un valor numérico menor que 0.5 para que sea confiable.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	133 / 140



Utilizar cubetas cuadradas de 10 mm, tubos de ensayo de 10 mm o los tubos de ½ del Spectronic 20.



Al realizar las lecturas es importante iniciar con el blanco de reactivos, posteriormente leer las soluciones estándar, patrón iniciando con la de menor concentración e ir en orden ascendente, por último se leerá las soluciones problemas.

Material, reactivos y equipo

Material

- 5 Tubos de ensayo de 13x100 mm
- 2 Pipetas de 5 mL
- Perilla de succión
- Celdas para el espectrofotómetro
- Gradilla
- Papel milimétrico

Reactivos

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

Equipo

- Espectrofotómetro Genesys 20

Técnica

- Preparar el espectrofotómetro a 450 nm
- Rotular tres tubos de ensayo con los números del 1 al 3.
- Rotular dos tubos de ensayo 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				
	Blanco	# 1	# 2	# 3	Problema
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



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	134 / 140

- Una vez realizadas las soluciones, preparar el espectrofotómetro.
- Leer en el espectrofotómetro ajustándolo a 0 de absorbancia y 100% de transmitancia, utilizando el tubo rotulado 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. ¿Defina espectro electromagnético?
2. ¿Qué es la transmitancia?
3. ¿Qué es la absorbancia?
4. ¿Qué es una curva estándar y para qué sirve?
5. ¿Qué importancia tiene el disco de Newton en espectrofotometría?

Referencias

- Anderson, SC y Cockayne, S. *Química Clínica*. Interamericana / McGraw-Hill. México 1995.
- González de Buitrago, JM, Ferreiro, EA., Rodríguez-Segade, M. y Sánchez, PA. *Bioquímica Clínica*. McGraw-Hill / Interamericana. España 1999.
- Skoog, D., Holler, J. y Nieman, TA. *Principios de Análisis Instrumental*. McGraw-Hill. España 2001.
- Thermo Electron Corporation, 2004. *Espectrofotómetro GENESYS™20*. Available at: http://www.thermo.com/eThermo/CMA/PDFs/Product/productPDF_2487.pdf [Accedido marzo 17, 2012].



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	135 / 140

Anexo 4: Centrifuga.

Objetivo

- Aprender el manejo de la centrífuga y los cuidados que se deben tener para la obtención de suero o plasma no hemolizados necesarios para obtener análisis cuantitativo más exacto.

Aplicaciones clínicas

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**.

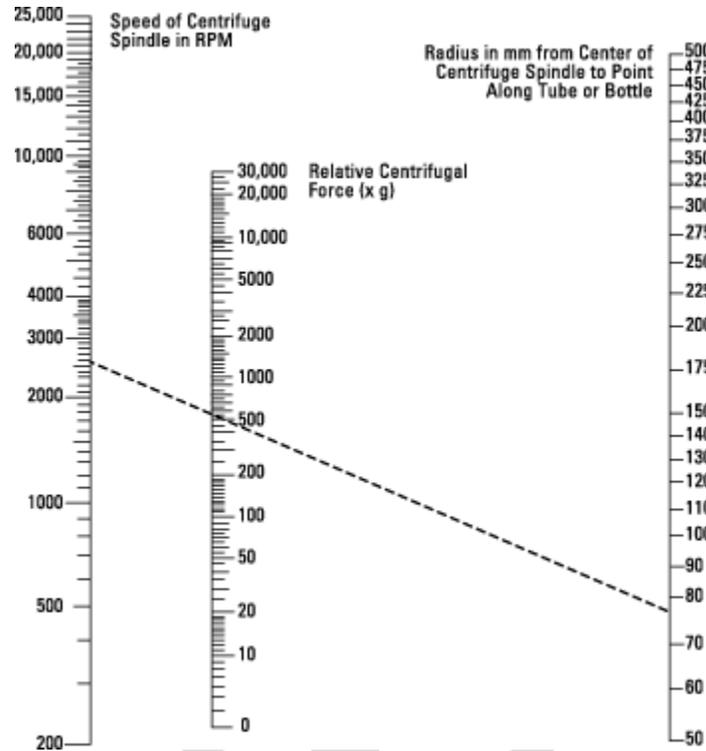
Las centrífugas más sencillas consisten en un motor eléctrico que lleva unido un vástago que soporta el cabezal o rotor donde se colocan los recipientes con las muestras. Hay dos tipos principales de cabezales: horizontales y angulares.

- **Horizontales:** En los rotores horizontales, bajo la acción de la fuerza centrífuga los tubos giran libremente y se colocan en una posición horizontal, de forma que la separación se produce paralela al eje de rotación.
- **Rotores Angulares:** En los rotores angulares, los tubos se encuentran fijos y la separación se produce con un componente doble, hacia la pared lateral y hacia el fondo del tubo. Poseen un reóstato, por medio del cual se controla la velocidad de giro. Asimismo la mayoría de las centrífugas disponen de sistemas de frenado que entran en funcionamiento cuando cesa la acción de motor que mueve el vástago con el cabezal.

Debido a que existen varios modelos y capacidades de centrífuga, en todas las publicaciones donde se utiliza este equipo no se emplean como dato, dentro de la técnica, las rpm sino las **fuerzas g** o **Fuerza Relativa Centrífuga (FCR)**, la cual representa las fuerzas de gravedad a la que son sometidas las muestras para lograr la separación. Para realizar la conversión entre fuerzas g y rpm y viceversa, se puede utilizar, un nomograma como el siguiente.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	136 / 140



Para utilizar el nomograma y convertir las rpm a fuerzas g o FCR, se hace coincidir las rpm con la distancia que existe del centro de rotor al extremo de la camisa o tubo (r).

También posible el empleo de la siguiente fórmula:

$$FCR = 1.12r\left(\frac{rpm}{1000}\right)^2$$

Aplicación

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.

La **ultracentrifugación** se usa poco, debido al elevado costo de las ultracentrífugas y lo complicado de sus metodologías. En los laboratorios clínicos más especializados su aplicación principal es la separación de las lipoproteínas plasmáticas.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	137 / 140

Cuidados

1. Los tubos que se coloquen en la centrífuga deberán estar por pares para que no haya desnivel de peso de un lado del aparato. Enfrente de un tubo de un peso determinado deberá estar otro, en la posición opuesta y con igual peso.
2. A altas velocidades el tubo puede romperse si en el fondo de la camisa no se encuentra una protección de hule o un algodón, revisar de que exista.
3. Para no forzar el motor, arránquese gradualmente.
4. No frene la centrífuga permita que ella se detenga.
5. No levante la tapa de la centrífuga cuando todavía está en movimiento.

Material, reactivos y equipo

Material

- 1 gradilla
- 1 pipeta de 5 mL
- 1 pipeta Pasteur
- Tubos de ensaye de 13x100
- Perilla
- Pizeta con agua destilada.
- Vaso de precipitados con suspensión de carbonato de calcio en agua.

Equipo

- Suspensión de carbonato de calcio

Equipo

- Balanza granataria.
- Centrífuga

Técnica

1. Adicionar 3 mL de agua carbonatada en un tubo de ensaye, colocarlo en su camisa teniendo cuidado de revisar si existe algodón en el fondo de esta.
2. En otro tubo de ensaye colocar 3 mL De agua destilada y de la misma manera colocarlo en otra camisa.
3. Equilibrar los pesos en una balanza granataria adicionando o quitando agua con una pipeta Pasteur en el tubo que tiene agua destilada.
4. Cuando los pesos estén equilibrados colocarlos en posición opuesta dentro de la centrífuga.
5. Centrifugar a 2000 rpm durante 3 minutos teniendo cuidado de arrancar la centrífuga en forma lenta.
6. De la misma manera, transcurrido el tiempo bajar la velocidad lentamente.
7. Observe la separación de las dos capas y concluya.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	138 / 140

Cuestionario

1. ¿Para qué sirve la centrífuga?
2. ¿Qué cuidados debe tener al centrifugar?
3. ¿Qué diferencia existe entre la fuerza centrífuga y la centrípeta?
4. ¿Qué diferencia existe entre las **rpm** y fuerza **g**?

Referencias

- José M. González de Buitrago; 1992. Tecnología y métodos de laboratorio Clínico, Barcelona(España) : Salvat

CONCESIÓN



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	139 / 140

Anexo 5. Valores de referencias

Es importante hacer notar que los valores de referencia varían de una técnica a otra, de un equipo o laboratorio y evidentemente de una persona a otra e incluso de la misma persona en diversos momentos (**variabilidad fisiológica intraindividual e interindividual**). Por esta razón los límites de referencia que aparecen en los libros, insertos o revistas científicas por más prestigiosos que sean, no deben utilizarse como valores inamovibles y sí deberán ser utilizados con cautela y de manera analítica e integral.

Componente analizado (todas en suero)	Unidades de medida		
	Convencionales [A]	Factor x =	Internacional [B]
Ácido úrico			
• Hombre	4-8.5 mg/dL	0.059	0.24-0.5 mmol/L
• Mujer	2.7-7.3 mg/dL		0.16-0.43 mmol/L
Alanin aminotransferasa (ALT)			
• Hombre	< 31 U/L a 37 °C		< 0.52 µkat/L
• Mujer	< 41 U/L a 37 °C		< 0.68 µkat/L
Albúmina	3.5-5.0 g/dL	144.9	507.5-724.5 µmol/L
Amilasa	60-160 U Somogy/L	1.85	111-296 U/L
Aspartato aminotransferasa (AST)			
• Hombre	< 32 U/L a 37 °C		< 0.53 µkat/L
• Mujer	< 38 U/L a 37 °C		< 0.63 µkat/L
Bilirrubinas			
• Directa	≤0.3 mg/dL	17.1	≤ 5.1 µmol/L
• Indirecta	0.1-1.0 mg/dL		1.7-17.1 µmol/L
• Total	0.1-1.2 mg/dL		1.7-20.5 µmol/L
Calcio	8.5-10.8 mg/dL 4.2-5.4 mEq/L	0.2495 0.5	2.1-2.7 mmol/L
Cloruro	347-375 mg/dL	0.282	98-106 mmol/L
Colesterol	150-250 mg/dL	0.026	3.9-6.9 mmol/L
Creatinina	0.6-1.2 mg/dL	88.4	53-106 µmol/L
Fosfatasa ácida	0.13-0.63 U/l a 37° C	16.67	2.2-10.5 U/L
Fosfatasa alcalina	20-90 U/l a 37° C	1	20-90 U/L
Glucosa	70-110 mg/dL	0.055	3.85-6.05 mmol/L
Hemoglobina			
• Mujer	12-16 g/dL	0.6205	7.44-9.92 µmol/L
• Hombre	13.5-18 g/dL		8.37-11.16 µmol/L
Lactato deshidrogenasa			
Triglicéridos	10-190 mg/dL	0.011	0.11-2.09 mmol/L
Urea	15-39 mg/dL	0.1665	2.5-6.41 mmol/L



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-MC-ML01	16/11/2017	0	140 / 140

Nota

Para convertir la unidad de medida **A**, unidad convencional, hacia la unidad de medida **B**, que corresponde al **Sistema Internacional (SI)** basta con multiplicar por el factor **X**. Pero si se desea pasar de **B** → **A** debemos multiplicar por el recíproco del factor, utilizado para convertir de **A** → **B**, es decir $\frac{1}{\text{Factor}}$, por ejemplo para convertir 6.05 mmol/L de glucosa a mg/dL

$$6.05 \times \frac{1}{0.055} = 6.05 \times 18.18 = 110 \text{ mg/dL}$$

Referencias

- Campbell, June Blankenship & Campbell, Joe Bill, 1997. *Laboratory Mathematics: Medical and Biological Applications* 5th ed., Saint Louis, Mo.; USA: Mosby.
- Fuentes Arderiu, X., 2003. *Codex Del Laboratorio Clínico: Indicaciones E Interpretación De Los Exámenes De Laboratorio*, Madrid: Elsevier.
- Henry, JB, 1988. *Todd-Sanford-Davidsohn; Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio*. 8.ª ed., España: Salvat.