

Manual de Prácticas de Laboratorio de Bioquímica

Carrera de Médico Cirujano, FES Zaragoza, UNAM





Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Carrera de Médico Cirujano

Directorio FES Zaragoza

Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez

Director

Dr. Vicente J. Hernández Abad

Secretario General

Dra. Rosalinda Escalante Pliego

Secretaria de Integración, Promoción y Desarrollo Académico

M. en C. Faustino López Barrera

Secretario de Planeación

Lic. Sergio Silva Salgado

Secretario Administrativo

Dr. Edelmiro Santiago Osorio

Jefe de la División de Posgrado e Investigación

Dr. Omar Viveros Talavera

Jefe de la División de Ciencias de la Salud y el Comportamiento

Mtro. Eliseo Cantellano de Rosas

Jefe de la División de Ciencias Químico Biológicas

Lic. Carlos Padilla Tello

Jefe de la Unidad Jurídica

Directorio Carrera Médico Cirujano

Dr. Noe Contreras González

Jefe de Carrera

Dra. María Luisa Ponce López

Secretaria Técnica de la Carrera

Dra. Dolores Patricia Delgado Jacobo

Coordinadora Área Ciencias Biomédicas

Dra. Irma Araceli Aburto López

Coordinadora del Área de Ciencia de la Salud Pública

Dra. María del Carmen García Ríos

Coordinadora del Área Terminal del Internado y Servicio Social

Dra. Rocío Paniagua Hernández

Coordinadora de Ciencias Clínicas

Presentación

*El presente **Manual de Prácticas de Laboratorio de Bioquímica** de la Carrera de Médico Cirujano, aprobado por el Comité Académico de Carrera en su sesión ordinaria del 12 de septiembre de 2013¹, tiene como propósito coadyuvar en la adquisición de conocimientos y destrezas básicas para la obtención de resultados al mismo tiempo que son interpretados y por ende su relación con la fisiopatología respectiva.*

Nos queda claro que toda obra intelectual es susceptibles de mejoras, lo cual representa una oportunidad para que de manera conjunta, alumnos, profesores y funcionarios trabajemos por un bien común.

¹ De acuerdo al oficio FESZ/CMC/JC/192/13



Misión

Formar médicos generales poseedores de conocimientos científicos y cultura universal para una práctica responsable, competente, ética y humanística que les permita contribuir a la prevención y solución de la problemática de salud del país, dotados de una actitud crítico-creativa, comprometidos con su actualización profesional y dispuesta a continuar con estudios de posgrado.

Visión

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

Autores del Manual

- *Escalera Zuñiga Enrique, profesor de asignatura*
- *Rodríguez José Luis, profesor de asignatura titular*
- *Altamirano Aceves Raúl, profesor de asignatura*
- *Hernández Isaás Marcela, profesora de asignatura*

Revisores del Manual

- *Escalera Zuñiga Enrique, profesor de asignatura*
- *Rodríguez José Luis, profesor de asignatura titular*
- *Altamirano Aceves Raúl, profesor de asignatura*

Profesores del Laboratorio de Bioquímica

- *Altamirano Aceves Raúl*
- *Escalera Zuñiga Enrique*
- *Hernández Isaás Marcela*
- *Hernández Muñoz Mercedes*
- *López Pérez Luis*
- *Martínez Carrera Claudia*
- *Rodríguez José Luis*
- *Trejo Rodríguez Juan Carlos*
- *Valdés Vega Ignacio*
- *Vargas Pérez Antonieta*

*Este manual ha sido coordinado por la **Dra. Dolores Patricia Delgado Jacobo** Coordinadora del Área de Ciencias Biomédicas de la Carrera.*

*La vida de los grandes hombres nos demuestra que podemos hacer sublimes nuestras vidas y al partir dejar
tras nosotros huellas en la arena del tiempo.*

*Esta primera edición del **MANUAL DE PRÁCTICAS DE BIOQUÍMICA DE LA CARRERA DE MÉDICO CIRUJANO**
no hubiese sido posible sin los cimientos forjados por nuestros profesores.*

Reconocimiento

Al Ingeniero

Juan Abel Hidalgo Durán

Profesor fundador de la FES Zaragoza



In Memoriam

*De quienes apresuraron sus pasos en este plano terrenal y se nos adelantaron en el proceso
a que todo ser vivo se encuentra sujeto.*



Pascual Estrada González



Laura Mayoral León



Jorge Ignacio García Méndez

Contenido

Toma de Muestra Sanguínea.....	1
Osmosis	6
Cromatografía de Aminoácidos.....	9
Albúmina Sérica.....	15
Amilasa.....	17
Aspartato amino transferasa (AST/TGO)	20
Alanina amino transferasa (ALT/TGP)	23
Urea.....	26
Glucosa.....	30
Deshidrogenasa Láctica (LDH).....	34
Triglicéridos	37
Colesterol.....	40
Creatinina	43
Grupos Sanguíneos.....	45
Pruebas Cruzadas	49
Examen General de Orina.....	53
Fórmula Roja	56
Hemoglobina.....	56
Hematocrito.....	59
Índices eritrocíticos	62
Concentración media de hemoglobina corpuscular (CMHC)	62
Hemoglobina corpuscular media (HCM).....	64
Volumen corpuscular medio (VCM Ó MCV)	65
Fosfatasa Alcalina (ALP)	67
Anexos	70
Anexo 1: Material de Laboratorio.....	70
Anexo 2: Preparación de Soluciones Porcentuales (%).....	76
Anexo 3: Espectrofotómetro	79
Anexo 4: Centrifuga.....	83
Anexo 5: Manejo de Residuos Biológicos-Infecioso.....	86
Anexo 6: Preparación de Reactivos y Soluciones.....	89

<i>Cromatografía de Aminoácidos</i>	89
<i>Anexo 7. Valores de referencias</i>	90
<i>Anexo 8. Reglamento Académico para Laboratorio de bioquímica para la Carrera de Médico Cirujano</i>	92
<i>Capítulo I: DISPOSICIONES GENERALES</i>	92
<i>Capítulo II: REGLAMENTO CON RELACIÓN AL PROFESOR</i>	92
<i>Capítulo III: CON RELACIÓN AL ALUMNO</i>	94
<i>Capítulo IV: CON RELACIÓN A LA HIGIENE Y SEGURIDAD</i>	94
<i>Capítulo V: DISPOSICIONES ADICIONALES</i>	95

Toma de Muestra Sanguínea

Objetivos

- Aprenderá 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.
- Determinará la importancia clínica que tiene la toma de muestra sanguínea desde el punto de vista calidad de los resultados obtenidos.

Marco Teórico

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

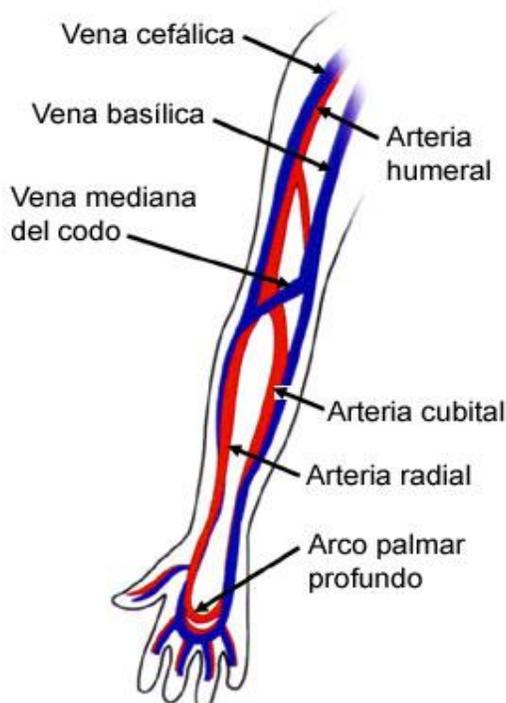
La solución limpiadora de la piel más común es el alcohol isopropílico al 70%, puede aplicarse con una torunda embebida, en el sitio debe realizarse la asepsia con movimientos circulares desde el centro hacia afuera. Es importante que el área se seque al aire antes de efectuar la venopunción.

Selección de una vena para la venopunción de rutina.

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.



Procedimientos para la venopunción

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.
- 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.



Es preferible evitar la toma de muestra con jeringa, ya que representa más inconvenientes que ventajas, pero de hacerlo 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.
- 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) Sujetar firmemente el soporte y el brazo para evitar que se salga o lastimemos al paciente.
- 11) 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.
- 12) A medida que vaya ingresando la sangre al tubo, girar el tubo para hacer que la sangre entre en contacto con el aditivo.
- 13) Colocar una torunda sobre la punción sin presionar, y extraer la aguja.
- 14) Eliminar la aguja en el contenedor para punzocortantes.
- 15) 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.

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

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*

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 recolecta en un momento erróneo.*
- *La muestra se recolecta 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.*

Anexos Relacionados

- *Manejo de Residuos Biológico-Infeccioso*

Referencias

- *Luis Moran Villatoro., 2001. Obtención de muestras sanguíneas de calidad analítica, México D.F.: Editorial Médica Panamericana.*

Osmosis

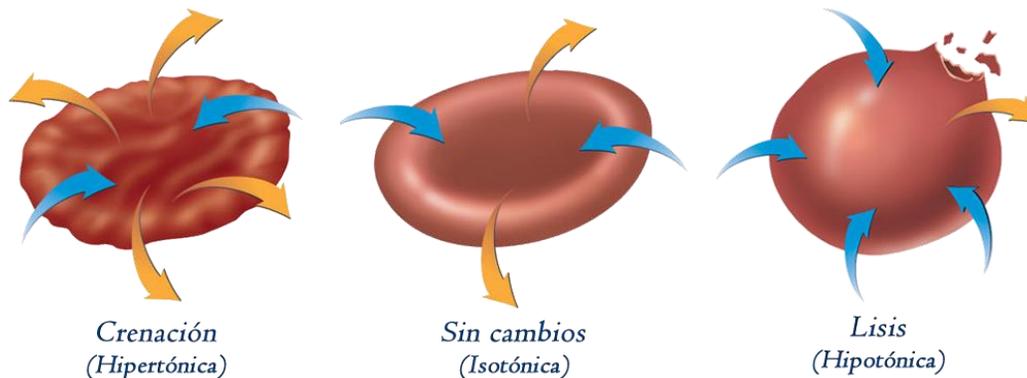
Objetivo

- 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.

Marco Teórico

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

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



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

Reactivos, material y aparatos

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.

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.

Cuestionario.

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

Anexos Relacionados

- Manejo de Residuos Biológico-Infecioso

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.*

Cromatografía de Aminoácidos

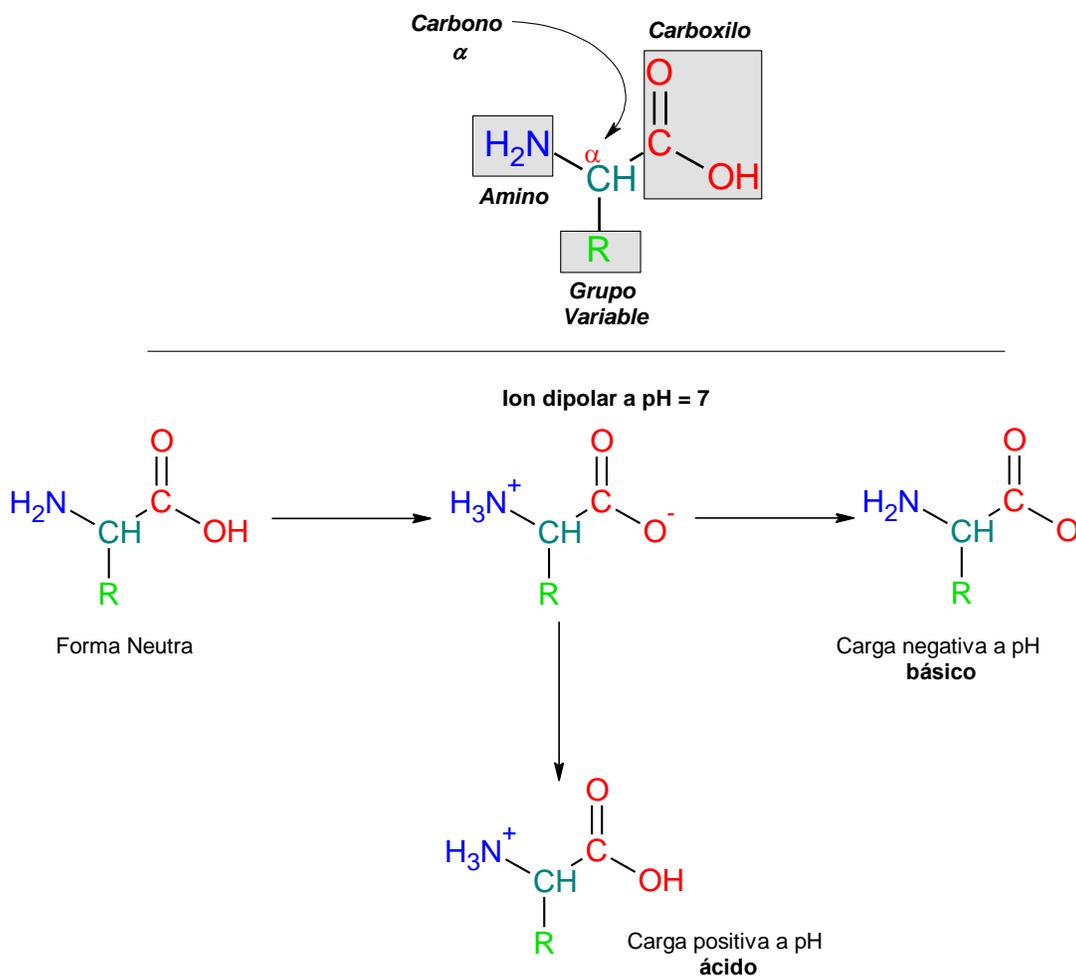
Objetivos

- Definir a los aminoácidos.
- Conocer las características estructurales comunes de los aminoácidos.
- Conocer las características y elementos de la cromatografía.

Marco Teórico

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 (**$-NH_2$**), a un ácido carboxílico (**$-COOH$**), a un hidrógeno (**H**) y un grupo o cadena **R**.



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

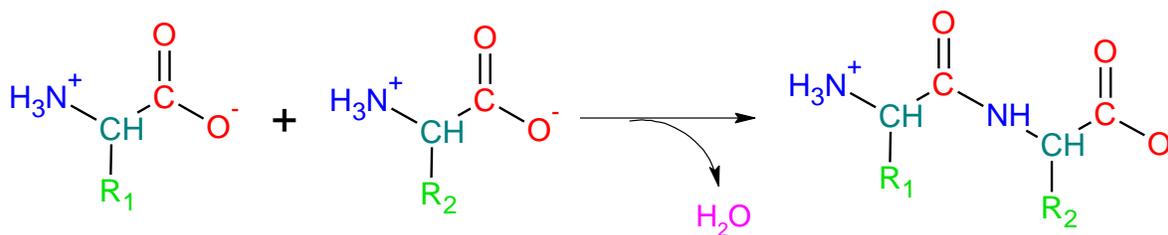


Existe un aminoácido en ciertas proteínas como las **peroxidasas** y **reductasas**, que participan en la catálisis de transferencias de electrones, es un tipo de cisteína pero que en lugar de azufre posee selenio, por ello se conoce como **Selenocisteína** o el **vigesimoprimer L-α-aminoácido**

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**.

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



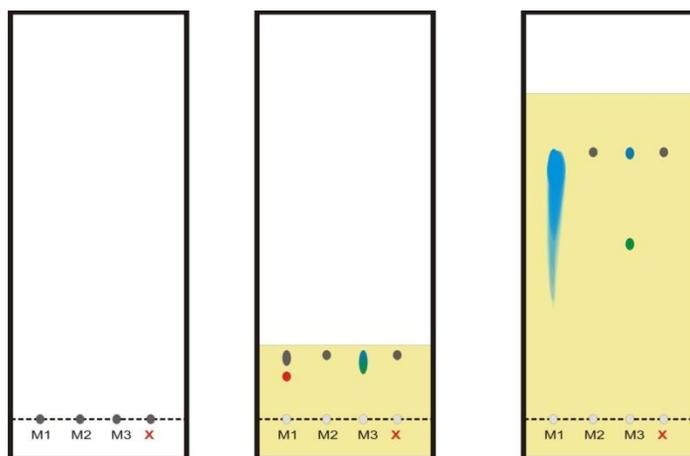
Y estos aminoácidos, los que conforman las proteínas de todos los mamíferos, son enantiómeros de tipo L y tipo Trans, se desconoce por qué la evolución eligió estas características.

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

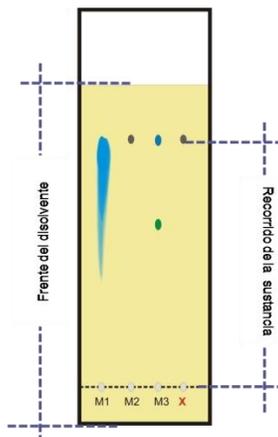
Habiendo controlado o conociendo lo anterior, podemos utilizar a la cromatografía para identificar una sustancia desconocida o un aminoácido, en este caso. Esto puede entenderse mejor en el siguiente esquema:



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:

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

Ejemplo:



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

Equipo

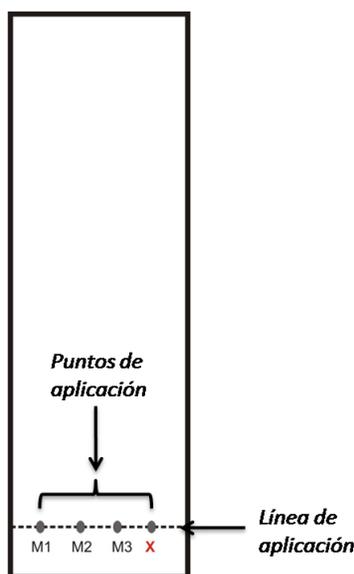
- Estufa

Reactivos

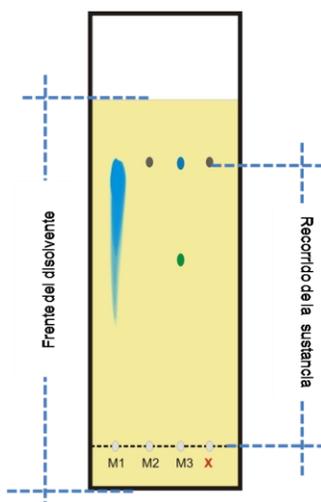
- Mezcla Butanol:Ácido acético:Agua (8:2:2)
- Patrones de aminoácidos
- Muestra problema
- Solución de ninhidrina 0.3%

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 taparla, para ello deslizar la tapa sobre la cámara.
- Dejar que el disolvente fluya libremente hasta un centímetro antes del borde superior.
- Sacar la placa y con un lápiz marcar la línea donde llegó el disolvente, la distancia e esta línea hasta el borde inferior se le llama **Frente del disolvente**.
- Secar la placa al aire y rociarla de ninhidrina con un aspersor.
- Colocar la placa en una parrilla de calentamiento hasta que aparezcan las manchas correspondientes.
- Con un lápiz delinear, suavemente, las manchas formadas entre el aminoácido y la ninhidrina.
 - Se obtienen colores azules o púrpuras para todos los aminoácidos exceptuando la prolina e hidroxiprolina que producen un color amarillo
- Medir la distancia del centro de la mancha al punto de aplicación, esta distancia es el Frente del soluto.
- Calcular el **Rf** para cada mancha e identificar el aminoácido que existe en la muestra problema.



Cálculo del R_f

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por la sustancia (cm)}}{\text{Frente del disolvente (cm)}}$$

Cuestionario

1. ¿Qué es un enantiómero?
2. ¿Por qué la cromatografía en capa fina se dice que es por adsorción y no por absorción?
3. ¿Qué reacción ocurre entre el aminoácido y la ninhidrina?
4. Realice una tabla donde se indique el aminoácido y la patología asociada al incremento o disminución.

Referencias

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

Albúmina Sérica

Objetivo

- Cuantificación de albúmina sérica por el método del verde de bromocresol y relacionar los resultados obtenidos con enfermedades hepáticas y renales.
- Con el mantenimiento de la presión oncótica y el transporte de sustancias insolubles en plasma.

Marco Teórico

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 y
- Globulinas.

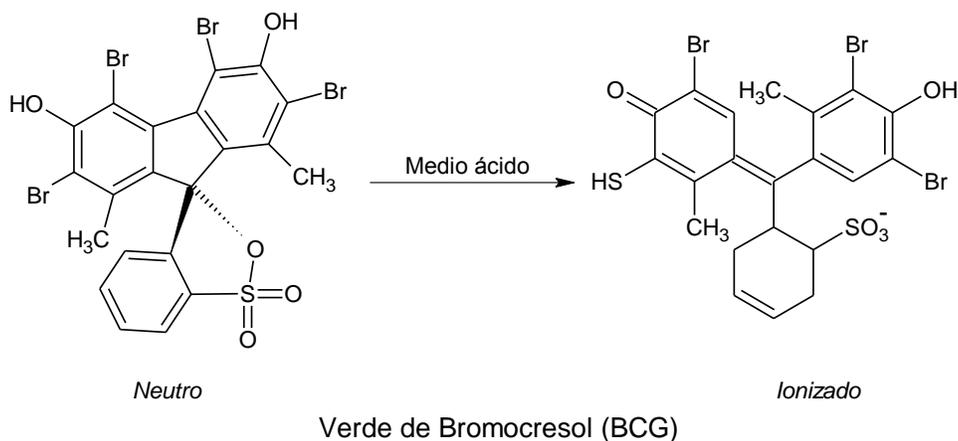
La albúmina es la principal proteína del plasma humano cuyo valor es de 3.5 a 5 g/dL, y la cantidad total intercambiable del fondo común de albúmina es de 4 a 5 g/kg de peso corporal; 38 a 45% de esta albúmina es intravascular y gran parte del resto se localiza en la piel. Entre 6 y 10% del fondo intercambiable 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.

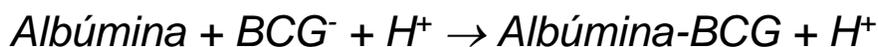
Principio de la reacción

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.



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

Técnica

Seguir las indicaciones del proveedor

Cuestionario

1. Investigue el papel de las proteínas plasmáticas en el mantenimiento de la presión oncótica, así como en la regulación del pH sanguíneo.
2. ¿Cuáles son las causas de una hipoalbuminemia?
3. ¿Cuáles son las consecuencias de una hipoalbuminemia?

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.

Amilasa

Objetivo:

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

Marco Teórico

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:
 - a. Exacerbación aguda de pancreatitis crónica
 - b. Gastrectomía parcial
 - c. Obstrucción del conducto pancreático
 - d. Úlcera péptica perforada
 - e. Intoxicación con alcohol
 - f. Parotiditis
 - g. Obstrucción o inflamación de los conductos de la glándula salival
 - h. Colecistitis aguda cálculo en conducto común
 - i. Obstrucción intestinal con estrangulación
 - j. Embarazo tubario roto y embarazo ectópico
 - k. Aneurisma aórtico roto
- La amilasa disminuye en:
 - a. Insuficiencia pancreática
 - b. Hepatitis, hepatopatía grave
 - c. Fibrosis quística avanzada
 - d. Toxemia del embarazo
 - e. Quemaduras extensas
 - f. Tirotoxicosis grave

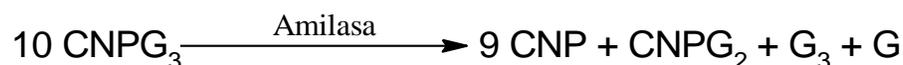
- La lipasa se eleva cuando hay alteraciones pancreáticas (pancreatitis y carcinoma pancreático). En ocasiones la lipasa no aumenta sino hasta 24 hs. Después de que comienza la enfermedad y permanece alta hasta 14 días. La elevación de la lipasa es posterior y persiste durante más tiempo que la de amilasa.
- 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 es mayor 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

Técnica

Seguir las indicaciones del proveedor

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)

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

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

Cuestionario

1. Explica la fisiopatología de la amilasa en las siguientes enfermedades:
 - a. Pancreatitis
 - b. Parotiditis
2. Explica la fisiopatología de la amilasa en las siguientes enfermedades:
 - a. Hepatitis
 - b. Toxemia del embarazo
3. Explica cuál es la relación diagnóstica que existe entre amilasa y lipasa
4. Explica porque el EDTA interfiere en la determinación de la amilasa
5. 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.

Aspartato amino transferasa (AST/TGO)

Objetivo:

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

Marco teórico

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.

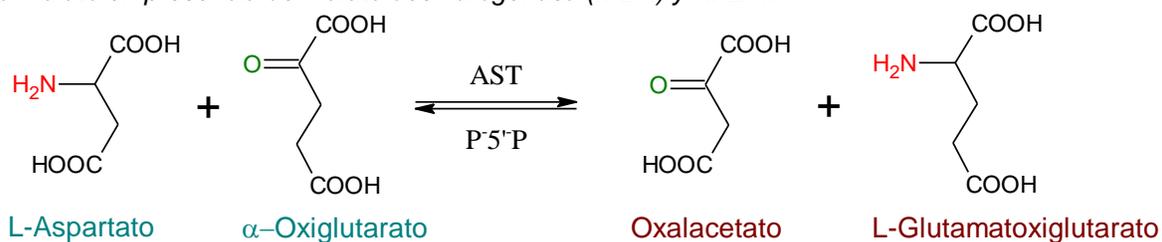
Esta prueba se utiliza para valorar enfermedades hepáticas y cardíacas.

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)
 - a. Hepatitis aguda y crónica
 - b. Cirrosis activa
 - c. Mononucleosis infecciosa
 - d. Necrosis hepática
 - e. Carcinoma primario o metastásico
 - f. Hepatitis alcohólica
 - g. Síndrome de Reye
- Otras enfermedades que pueden acompañarse de elevación de la AST:
 - a. Pancreatitis aguda
 - b. Traumatismo o radiación del músculo esquelético
 - c. Dermatomiositis
 - d. Polimiositis
 - e. Triquinosis
 - f. Cateterismo cardíaco
 - g. Traumatismo cerebral
 - h. Lesiones por aplastamiento
 - i. Distrofia muscular progresiva
 - j. Embolia pulmonar
 - k. Gangrena
 - l. Hipertermia maligna
 - m. Intoxicación por hongos
- La AST disminuye en
 - a. Hiperazoemia
 - b. 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

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)

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

Cuestionario.

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

Alanina amino transferasa (ALT/TGP)

Objetivo:

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

Marco teórico

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.

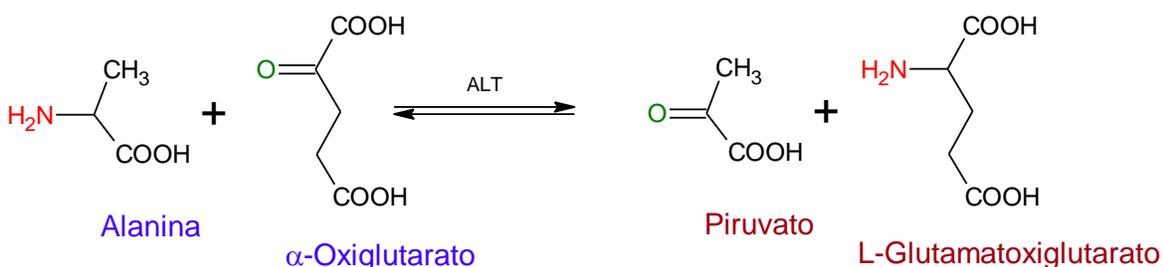
Significado Clínico

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:



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.

Técnica

Seguir las indicaciones del proveedor

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)

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

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 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.*

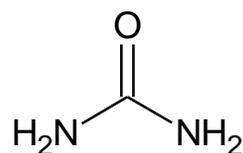
Urea

Objetivo:

- Determinar cuantitativamente la concentración de urea en sangre periférica.
- Interpretar los resultados obtenidos de acuerdo a los valores de referencia.

Marco Teórico.

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
- **El BUN disminuye en:**
 - a. Insuficiencia hepática (hepatopatía grave) como en hepatitis, intoxicaciones, uso de medicamentos hepatotóxicos.
 - b. Acromegalia
 - c. Desnutrición

- d. Uso de esteroides anabólicos
- e. Alimentación intravenosa
- f. Absorción insuficiente (enfermedad celíaca).
- g. Síndrome nefrótico (ocasional)
- h. Síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética (SIADH)

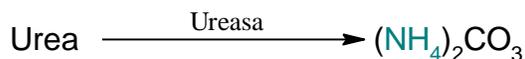
Principio de la reacción

Existen dos métodos utilizados para la determinación de urea:

Enzimático acoplado

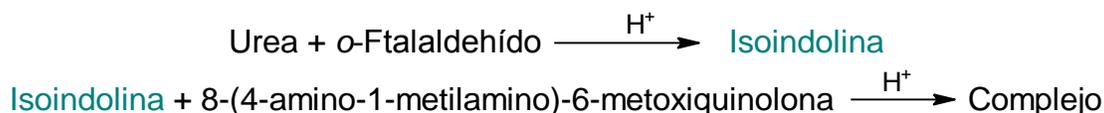
Este método es muy específico y rápido, tiene como característica que se utiliza una serie de enzimas como la ureasa y el glutamato deshidrogenasa (GLDH) además de ser:

- 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.



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.

Técnica

Seguir las indicaciones del proveedor

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)

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

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.*
7. *Enlista tres patologías que produzcan falsos negativos.*

Referencias

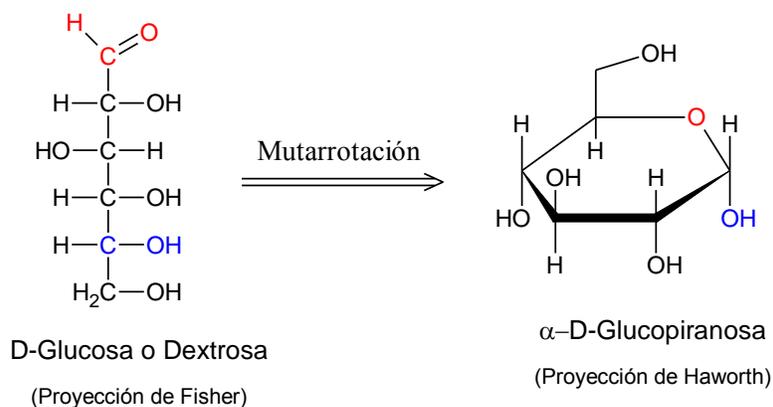
- *Jacques Wallach; 2002; Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio; Barcelona, Editorial: Masson*
- *Kolman – Ohm; 2004; Bioquímica texto y atlas; Buenos Aires Argentina, Editorial: Panamericana*
- *Thomas M. Devlin; 2007 Bioquímica texto y aplicaciones clínicas, España; Editorial: Reverté, 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.*

Glucosa**Objetivos**

- Establecer la importancia de la glucosa en el organismo.
- Describir las pruebas clínicas empleadas para la determinación de la glucosa.
- Mencionar los estados patológicos que involucran de la glucosa.

Marco Teórico

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.
- 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.

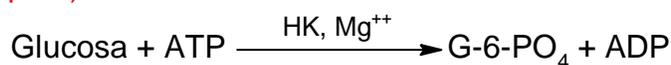
Dentro de los métodos químicos se tienen:

- **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

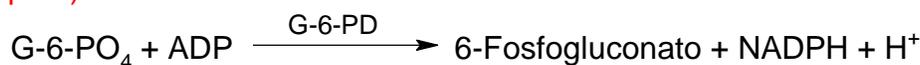
Dentro de las técnicas enzimáticas se tienen:

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

Etapa 1)



Etapa 2)

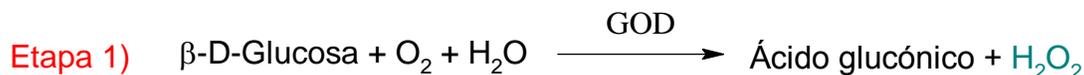


HK = Hexoquinasa

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

Técnica

Seguir las indicaciones del proveedor

Rangos de referencia

Unidades	Recomendable	Limítrofe	Alto Riesgo
Tradicional (mg/dL)	< 110	110-140	> 140
SI (mmol/L)	< 1.71	1.71-2.28	> 2.28

De acuerdo a la modificación de la NOM-015-SSA2-1994, 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 poscarga, 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 poscarga, 165 mg/dL a las dos horas poscarga 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

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 glicosilada 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].

³ Índice de Masa Corporal

⁴ Hemoglobina Glucosilada

Deshidrogenasa Láctica (LDH)

Objetivo:

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

Marco Teórico

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).

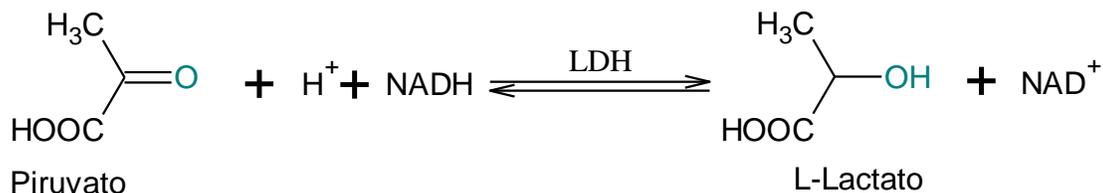
La LDH también es útil como marcador tumoral en el seminoma o tumor de células germinativas, especialmente cuando en este tumor no se produce AFP ni gonadotropina coriónica humana.

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 del miocardio.
- En infarto pulmonar: la LDH se eleva dentro de las primeras 24 h. Después de iniciado el dolor. El patrón caracterizado por una AST normal y LDH elevada que se nivela de uno a dos días después del episodio doloroso indica infarto pulmonar.
- La LDH también aumenta en enfermedades como:
 - a. Insuficiencia cardíaca congestiva.
 - b. Problemas hepáticos (cirrosis, alcoholismo y hepatitis viral aguda).
 - c. Neoplasias malignas o cáncer
 - d. Hipotiroidismo
 - e. Neumopatías (infarto pulmonar)
 - f. Patologías del músculo esquelético (distrofia muscular)
 - g. Anemia megaloblástica y perniciosa
 - h. Anemia de células falciformes
- La angina y pericarditis no provocan elevación de la deshidrogenasa láctica
- Cuando la cifra de LDH disminuye significa que la respuesta al tratamiento contra el cáncer es buena.
- La LDH urinaria se eleva en:
 - i. Cáncer del riñón o vejiga
 - j. Glomerulonefritis
 - k. Hipertensión maligna
 - l. Nefritis lúpica.
 - m. Necrosis tubular aguda

- n. Transplante 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.

Técnica

Seguir las indicaciones del proveedor

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)

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

Cuestionario:

1. Explica la fisiopatología de la LDH en las siguientes enfermedades:
 - a. Cirrosis hepática
 - b. Infarto agudo al miocardio
2. Explica la fisiopatología de la LDH en las siguientes enfermedades:
 - a. Glomerulonefritis
 - b. Hipertensión arterial
3. Explica la relación que existe entre LDH, AST y CPK
4. Explica de que forma el ejercicio extenuante interfiere en la determinación de la LDH
5. Investiga cuales son:
 - a. Las 5 isoenzimas de la LDH
 - b. 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.

Triglicéridos

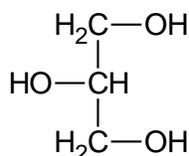
Objetivos

- Establecer la importancia de los triglicéridos en el organismo.
- Describir las pruebas clínicas empleadas para la determinación de los triglicéridos.
- Mencionar los estados patológicos que involucran a los triglicéridos.

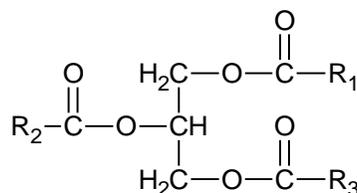
Marco Teórico

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.

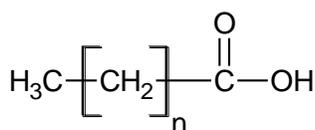


Glicerol

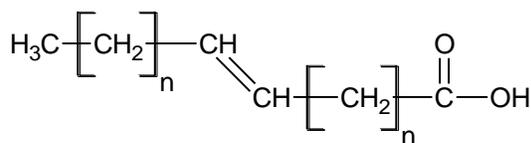


Triglicérido

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

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.

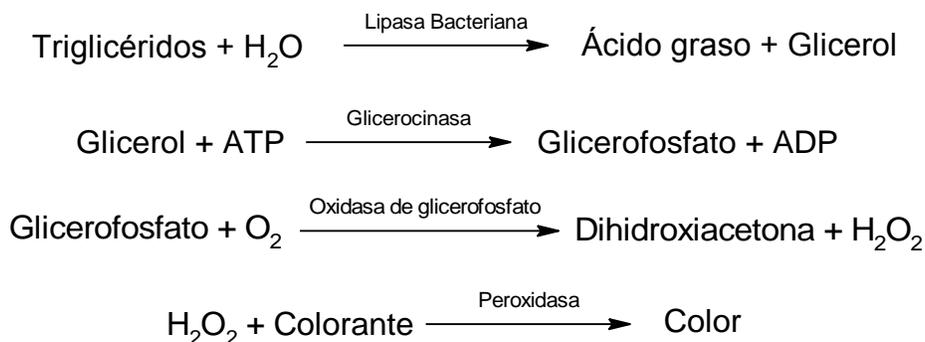
La medición de los TG séricos junto con el colesterol es útil para detectar ciertos trastornos genéticos y otros tipos de trastornos metabólicos, así como para caracterizar el riesgo de desarrollar enfermedad coronaria. El valor de los TG se emplea también para la estimación del colesterol LDL (C-LDL)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



Técnica

Seguir las indicaciones del proveedor

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	Multiplicar por:
	mg/dL	mmol/L	0.011
	mmol/L	mg/dL	88.54

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. Compare el rendimiento energético de manera aerobia de ácido palmítico y el omega 3

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.
- Secretaría 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, 2012].

Colesterol

Objetivos

- Establecer la importancia del colesterol en el organismo.
- Describir las pruebas clínicas empleadas para la determinación del colesterol.
- Mencionar los estados patológicos que involucran al colesterol.

Marco Teórico

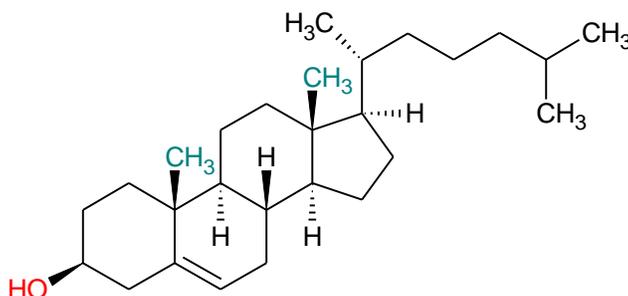
El colesterol es un esteroide que está presente en todos los tejidos animales y que cumple con diversas funciones como son:

- 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, esta la aterosclerosis que junto a la diabetes, la hipertensión y las dislipidemias se conoce como **Síndrome X**.

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 **colesteroesterasas**, 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 de colesterol mediante **colesteroesterasas (CE)**.
- **Oxidación** del colesterol mediante **colesterol oxidasa (CO)**.
- **Reducción** del peróxido mediante una **peroxidasa (P)**.

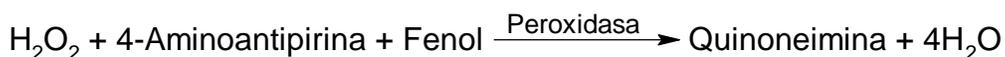
Etapa 1)



Etapa 2)



Etapa 3)



CE = Colesterol esterasa

CO = Colesterol Oxidasa

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

Cuestionario

1. ¿Por qué el colesterol bueno es bueno y el malo es malo?
2. ¿A qué etapa de la síntesis del colesterol actúan las estatinas?
3. ¿Qué diferencia existe entre aterosclerosis y arterioesclerosis?
4. Explique el modelo fisiopatológico más aceptado para la aterosclerosis
5. Realice un esquema que indique los destinos finales del colesterol y la función de cada uno de ellos.

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].

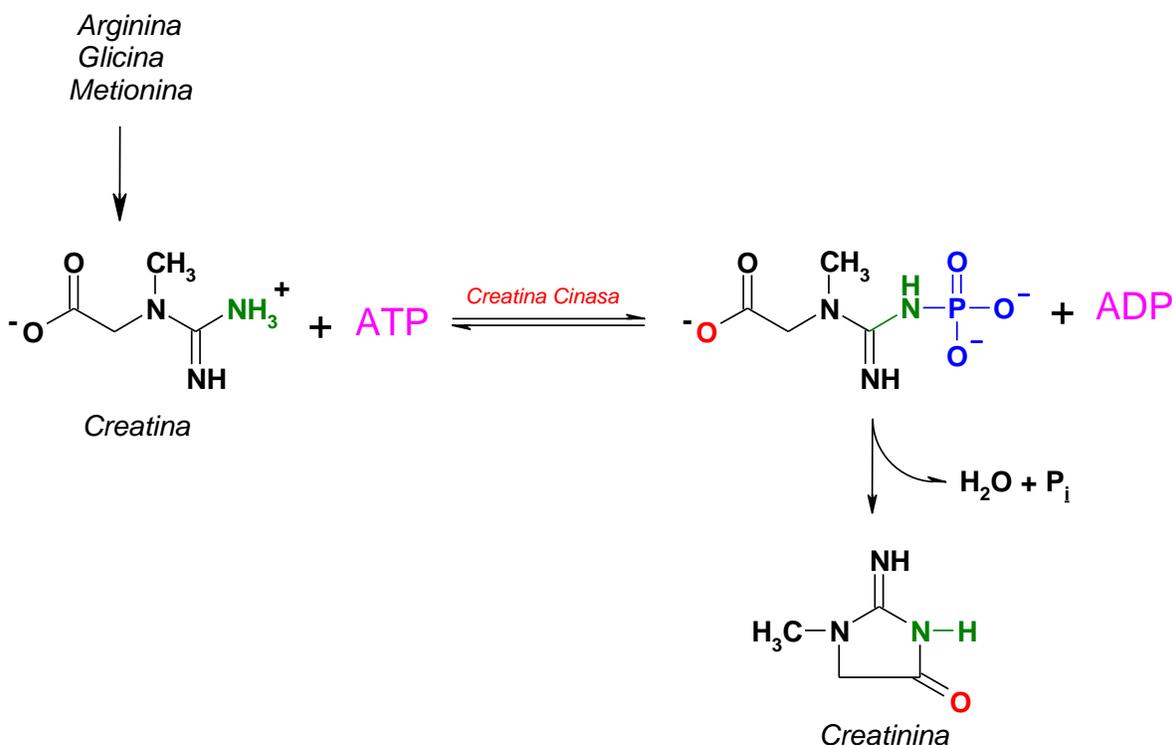
Creatinina

Objetivo

Cuantificar la cantidad de creatinina en plasma para establecer un diagnóstico de funcionamiento renal.

Marco teórico

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.

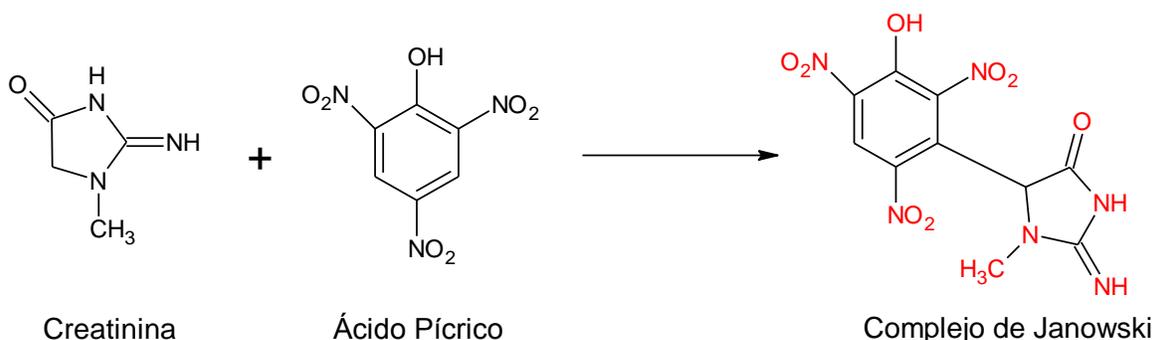
Significado Clínico

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.



Técnica

Seguir las indicaciones del proveedor

Rangos de referencia

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

Cuestionario

1. ¿Qué es la creatinina?
2. ¿Cuál sería el diagnóstico de un paciente con 5mg/dL de creatinina en plasma?
3. ¿Qué es la creatina y a partir de que aminoácidos se sintetiza?
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

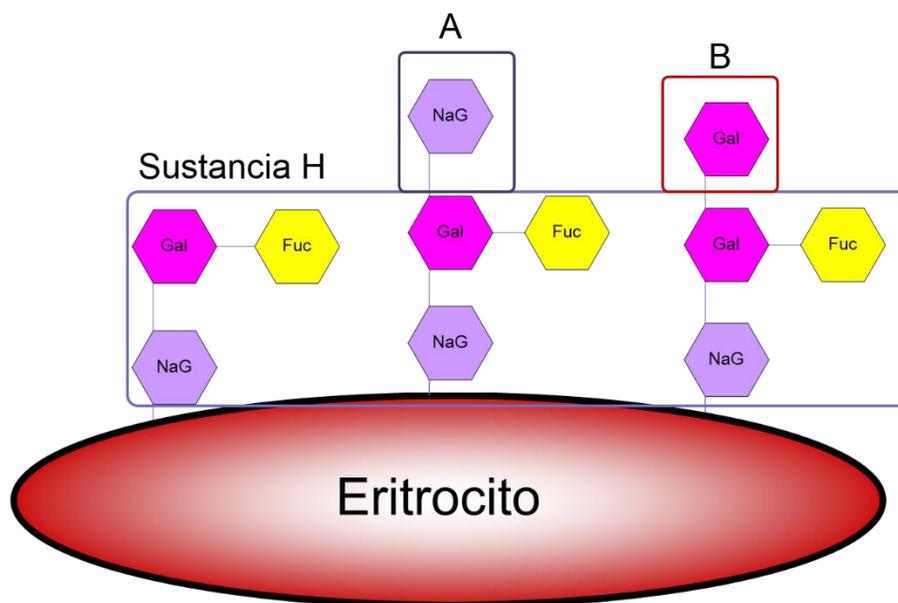
Grupos Sanguíneos

Objetivo

- Realizar la tipificación sanguínea para poder identificar el tipo y grupo sanguíneo de cualquier persona, utilizando antisueros ABO IgM monoclonales

Marco Teórico

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.

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 ABO. La no aglutinación indica en general la ausencia de antígenos ABO

Material, reactivos y equipo

Material

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

Reactivos

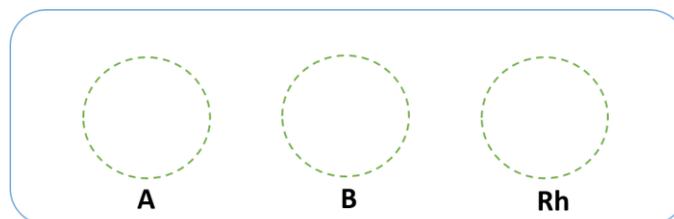
- Antisueros para tipificación ABO y Rh
 - Anti A
 - Anti B
 - Anti D

Equipo

- Microscopio o Estereoscopio

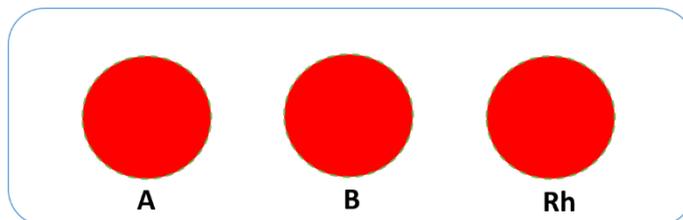
Técnica.

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**.

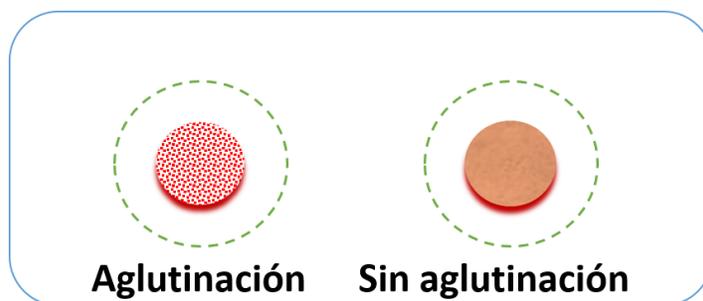


- a. Podremos utilizar la placa de porcelana y sólo será necesario escribir en el borde las anteriores leyendas.

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.

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			

Cuestionario

1. ¿Qué es un antígeno?
2. ¿Qué es un anticuerpo?
3. ¿Estructuralmente en que se diferencian los antígenos en el sistema AB0?
4. ¿Mencione en que consiste la tipificación?
5. ¿Cuál sería el resultado obtenido en la tipificación para una sangre 0 Rh negativa?
6. Realice una tabla donde explique el genotipo del sistema AB0 basado en la herencia Mendeliana
7. 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.

Pruebas Cruzadas

Objetivo:

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

Marco teórico.

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:

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

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

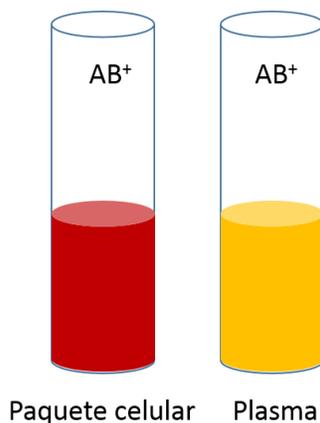
Equipo

- Centrífuga

Procedimiento

Tipificación

1. Tipificar al receptor y al donador según la práctica de **Grupos Sanguíneos**.
2. Una vez seleccionados extraer un tubo de sangre anticoagulada con EDTA a cada donador.
3. Rotular el tubo con el tipo de sangre que corresponde, no olvidar incluir el Rh.
4. Centrifugar los tubos a 4000 rpm por 5 minutos.
5. Separar el plasma de cada muestra a su correspondiente tubo, rotulado con el grupo sanguíneo, utilizando una pipeta Pasteur para cada muestra.

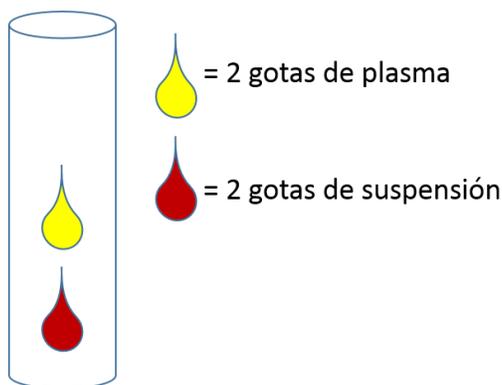


Lavados

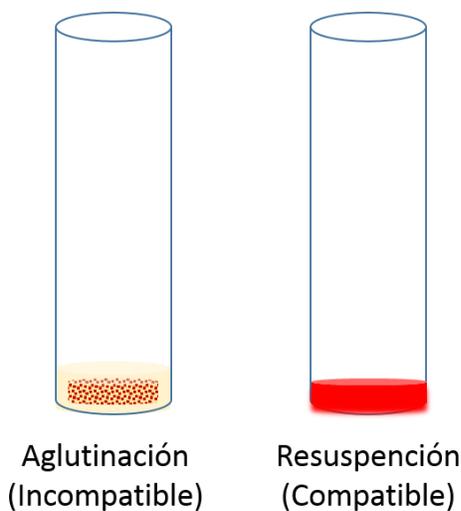
1. Al tubo con paquete celular adicionar 4 mL de solución salina 0.85 %, resuspender con cuidado cubriendo el tubo con Parafilm® y centrifugar a 4000 rpm durante 5 minutos.
2. Desechar el sobrenadante, que corresponde a solución salina con anticuerpos y demás proteínas plasmáticas, utilizando su correspondiente pipeta Pasteur.
3. Repetir los pasos 1 y 2 por tres ocasiones más.
4. Tras el último lavado prepara en otro tubo, rotulado con el grupo sanguíneo, una suspensión de eritrocitos al 5%.
5. Colocarlo a un lado del tubo que contiene el plasma correspondiente a la muestra de sangre.

Pruebas Cruzadas

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



5. Centrifugar ambos tubos a 4000 rpm durante 2 minutos.
6. Posteriormente agitar suavemente y observar si existe resuspensión o aglutinación.
 - a. Una **resuspensión** se reporta como **compatible**.
 - b. Una **aglutinación** se reporta como **incompatible**.



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

Examen General de Orina

Objetivo.

1. Realizar el análisis Físico-químico y microscópico de una muestra de orina
2. Interpretar los resultados obtenidos con las patologías más comunes, de acuerdo a los valores de referencia.

Marco teórico

La orina es un líquido muy complejo formado por 95% de agua y 5% de sólidos; constituye el producto final realizado por millones de células del sistema renal y urinario del metabolismo y tiene un gasto promedio de 1 a 1.5 Litros de orina por día, que depende de la ingestión de líquidos. A través de la orina se excreta una gran variedad de productos metabólicos de desecho; se forma en los riñones, que, junto con la piel y el aparato respiratorio, constituyen los órganos principales de excreción del organismo.

Significado clínico.

El examen general de orina es una prueba muy importante en los individuos que ingresan al hospital y forma parte del estudio integral del paciente. Es uno de los indicadores más útiles de salud o enfermedad. Este análisis tiene dos propósitos. El primero es detectar anomalías en las que el riñón funciona normalmente pero excreta cantidades anormales de productos metabólicos específicos para determinada enfermedad. El segundo propósito es el detectar alteraciones que modifican el funcionamiento de los riñones o del aparato urinario. Los riñones enfermos no funcionan normalmente para regular el volumen y la composición de los líquidos del organismo ni para mantener la homeostasia. El examen general de orina es muy útil para diagnosticar nefrosis (degeneración del riñón sin inflamación); nefritis (inflamación del riñón), pielonefritis (infección bacteriana) o glomerulonefritis (sin infección) y cistitis (inflamación vesical).

Interferencias.

1. Si la tira reactiva se mantiene dentro de la muestra demasiado tiempo, las sustancias químicas impregnadas en la tira tienden a disolverse, con lo que se obtendrán lecturas y cifras poco precisas.
2. Si los reactivos en las tiras se mezclan, las lecturas también serán poco precisas. Para evitar esto, sacuda la tira y elimine el exceso de orina después de haberla sumergido en la muestra.
3. El momento en que se realiza la prueba es muy importante. Si no se programa correctamente, los cambios de la coloración suelen producir resultados falsos o inválidos.
4. Si no se usa, el recipiente de las tiras debe guardarse bien tapado y en un ambiente seco, ya que si se humedece con el aire antes de ser utilizado, no se obtendrán resultados precisos. Cuando se incluye algún material secante en el frasco de las tiras, debe dejarse en el recipiente.
5. Ciertos medicamentos dan resultados falsos positivos.
6. Use orina reciente (dentro de la primera hora después de la recolección o bien una muestra refrigerada) para evitar la posibilidad de resultados inválidos como los siguientes:

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

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>		

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

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

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.

Fórmula Roja

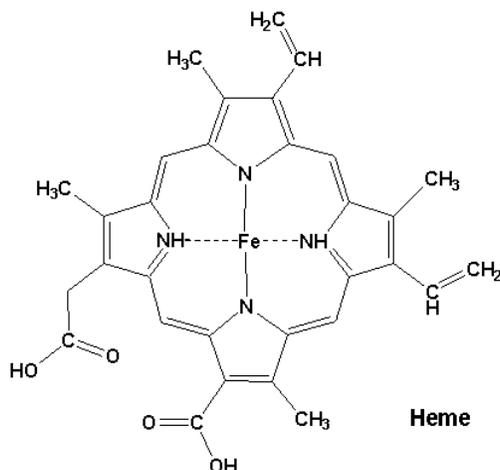
Hemoglobina

Objetivo

- Determinar cuantitativamente la concentración de la hemoglobina.
- Interpretar los resultados obtenidos con las patologías más comunes, de acuerdo a los valores de referencia.

Marco teórico

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 por la gran cantidad de adaptación y eficiencia que tiene el organismo para responder a las distintas concentraciones de hemoglobina en la sangre. Esta cifra debe de valorarse junto con la cuenta eritrocitaria y el hematocrito.

- Hipertiroidismo
- Cirrosis hepática
- Hemorragia abundante
- Reacciones hemolíticas causadas por:
 1. Transfusión de sangre incompatible
 2. Reacción a sustancias químicas y fármacos.
 3. Reacción a microorganismos infecciosos
 4. Reacción a factores físicos (quemaduras intensas o prótesis valvulares cardíacas)

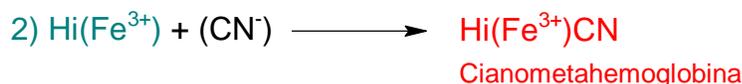
La hemoglobina aumenta cuando hay hemoconcentración (cualquier situación como policitemia y quemaduras intensas en las que aumenta el número de eritrocitos circulantes por arriba de lo normal).

- Neumopatía obstructiva
- Insuficiencia cardíaca congestiva
- Policitemia vera.

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

Técnica

Seguir las indicaciones del proveedor

Rangos de Referencia

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

Aviso Clínico

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

Una cifra $> 20\text{g/dl}$ provoca coagulación capilar por hemoconcentración.

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?

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.

Hematocrito.

Objetivo:

- 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.

Marco teórico

La palabra hematocrito significa “separar la sangre”, lo que describe el mecanismo de la prueba, ya que el plasma y las células de la sangre se separan mediante centrifugación.

Cuando se centrifuga la sangre, la fracción forme, que contiene los hematíes, se agrupa en el fondo del tubo, y el plasma queda en forma de sobrenadante.

El valor hematocrito, o simplemente hematocrito (Hct, Htc o Hto) es la relación existente entre el volumen ocupado por los hematíes y el ocupado por la sangre total, expresada en forma de porcentaje.

Este valor no es exactamente igual en todas las zonas vasculares del organismo. Así pues el HCT obtenido con sangre capilar es algo superior al logrado a partir de sangre venosa.

Significado clínico

Un hematocrito bajo indica anemia, situación en la que existe reducción del hematocrito, cantidad de hemoglobina y número de eritrocitos circulantes dependiendo del tipo de anemia.

Un hematocrito de 30 ó menos significa que el paciente puede tener anemia moderada o grave.

Esto también se puede observar en:

- Leucemia
- Hipertiroidismo
- Cirrosis
- Hemorragia masiva y aguda
- Reacción hemolítica. Situación que se observa al transfundir sangre incompatible o como reacción a sustancias químicas o fármacos, microorganismos infecciosos o factores físicos (quemaduras, prótesis valvulares cardíacas).

El hematocrito se eleva en la policitemia, que es el aumento en el número de eritrocitos basado en el HCT y el valor de la hemoglobina, además en:

- Eritrocitosis
- Deshidratación intensa

El hematocrito puede o no ser confiable inmediatamente después de una hemorragia moderada e inmediatamente después de las transfusiones o no. Sin embargo, constituye un buen indicador de la cantidad de sangre que se haya perdido hasta el momento en que se obtiene la muestra.

Generalmente el Hct es paralelo a la cuenta eritrocitaria cuando las células son de tamaño normal, también se eleva el hematocrito. No obstante, para el paciente con anemia microcítica o macrocítica, esta relación no es igual. Si un paciente cursa con anemia por deficiencia de hierro

con eritrocitos pequeños, el Hct disminuye debido a que las células microcíticas forman un paquete más pequeño. Sin embargo, la cuenta eritrocitaria es normal.

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 1%

Equipo

- Centrífuga
- Balanza granataria

Procedimiento para macrohematocrito

- Extraer 3 mL de sangre venosa con jeringa o con vacutainer
- Colocarla en un tubo de ensaye de 13x100 mm limpio y seco que contiene 0.1 mL de EDTA al 1% por cada mL de sangre.
- Mezclar para homogenizar
- Con una pipeta Pasteur de talle largo llenar un tubo de Wintrobe hasta la marca de 10 evitando que se formen burbujas. Adaptarlo con algodón en un tubo vacío cuidando que el tubo de Wintrobe no pegue con el tacómetro.
- Igualar pesos utilizando un tubo vacío con agua
- Centrifugar a 3000 rpm durante 30 minutos.
- Tomar la lectura del hematocrito directamente del tubo de Wintrobe que está graduado

Microhematocrito

- Llenar 2 terceras partes de un capilar de sangre total.
- Sellar un extremo del capilar con plastilina o con un encendedor
- Adherirlo a un tubo de ensaye vacío con cinta adhesiva.
- Igualar pesos utilizando un tubo vacío con agua
- Leer el porcentaje de hematocrito midiendo con el aparato especial o con una regla en milímetros

Rangos de referencia.

Hematocrito	%
0 a 2 semanas	44 a 64
2 a 8 semanas	39 a 59
2 a 6 meses	35 a 49
6 meses a un año	29 a 43
1 a 6 años	30 a 40
6 a 16 años	32 a 42
16 a 18 años	34 a 44
Mujeres adultas	36 a 48
Hombres adultos	42 a 52

Aviso clínico

1. El hematocrito < 20% produce shock hipovolémico, insuficiencia cardíaca y muerte.
2. El hematocrito > 60% provoca coagulación sanguínea espontánea.

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.

Índices eritrocíticos

Concentración media de hemoglobina corpuscular (CMHC)

Objetivo

- 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.

Marco teórico

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)
- 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

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

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.

Hemoglobina corpuscular media (HCM)

Marco teórico

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 hiper Cromía 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 hiper Cromía relativa a la macrocitosis.

Interferencias

1. La hiperlipidemia eleva en forma falsa la hemoglobina corpuscular media.
2. La cuenta eritrocitaria mayor a $50,000/\text{mm}^3$ 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

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.

Volumen corpuscular medio (VCM Ó MCV)

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.

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

Significado clínico

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

1. El VCM disminuye en:
 - a. Ferropenia
 - b. Talasemia
2. El VCM aumenta en:
 - a. Carencias de vitamina B₁₂ o ácido fólico
 - b. Hepatopatías crónicas
 - c. Reticulocitosis

Interferencias

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

Valores de referencia

- 82 a 98 femtolitros (fL)

Cuestionario

1. ¿Qué utilidad clínica tiene la determinación del VCM?
2. ¿Qué indica un valor de VCM por debajo de los valores de referencia?
3. ¿Qué indica un valor de VCM dentro de los valores de referencia?
4. ¿Qué indica un valor de VCM encima de los valores de referencia?
5. Con los datos siguientes, calcule el VCM, HCM y CHCM
 - Hct = 41.8%
 - Hb = 14.5 g/dL
 - GR = $4.86 \times 10^6/\text{mm}^3$
6. Interprete los resultados obtenidos en el caso anterior, clasificando el tipo de anemia si es que existiera.
7. 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.

Fosfatasa Alcalina (ALP)

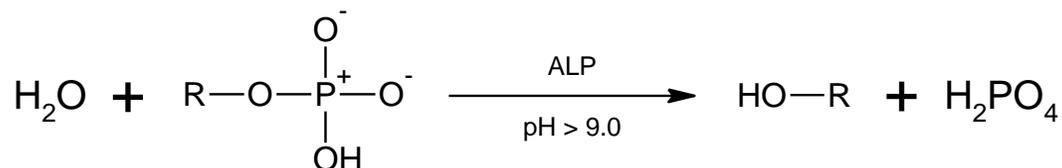
Objetivos

- Establecer la importancia de la fosfatasa alcalina.
- Determinar la concentración de la fosfatasa alcalina.

Marco Teórico

La Fosfatasa alcalina (ALP) es el nombre genérico de un grupo de enzimas (E.C 3.1.3.1) que presentan su máximo de actividad en el rango de pH de 9.0 a 10.5. Estas enzimas catalizan la electrólisis de gran variedad de fosfomonoésteres. Específicamente la ALP libera fósforo inorgánico con producción simultánea de un alcohol, en presencia de Mg^{+} como activador.

La reacción enzimática general de la fosfatasa alcalina se lleva a cabo como sigue:



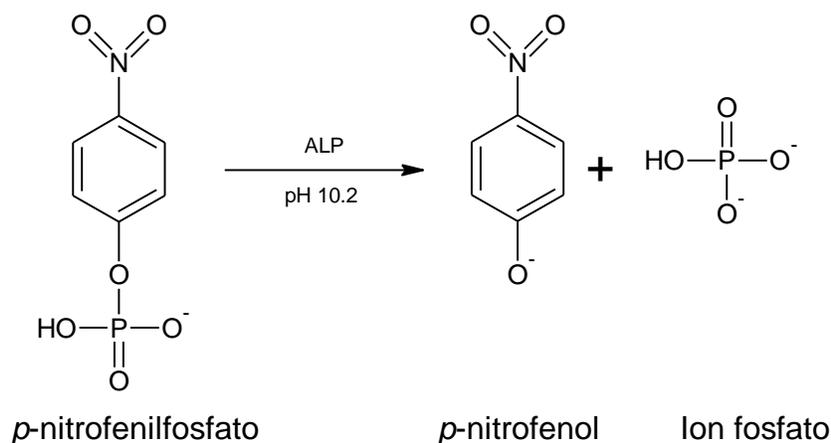
La actividad de la ALP se presenta en superficies celulares en la mayor parte del tejido humano. Las concentraciones más altas se encuentran en el intestino, hígado, huesos, bazo, placenta y riñón. En el hígado la enzima se localiza en membranas canaliculares sinusoidales y biliares; la actividad en el hueso está confinada a los osteoblastos.

La ALP está constituida de nueve isoenzimas de las cuales se han estudiado principalmente las derivadas de hígado, hueso, intestino y placenta.

Isoenzima	Comentario
Hepática	Incrementa en enfermedades hepatocelulares o enfermedad hepática obstructiva, electroforéticamente puede dividirse en dos fracciones, la principal y la fracción llamada hígado rápido o hígado α_1 , en enfermedad hepática se incrementa rápidamente la fracción principal. La colestasis estimula a los hepatocitos a sintetizar ALP y los ácidos biliares facilitan su liberación de la membrana celular.
Hueso	Se incrementa debido a la actividad de los osteoblastos.
Intestino	Su presencia depende del grupo sanguíneo y el estado secretor del individuo. Los individuos que tienen grupo sanguíneo B u O y son secretores tienen más probabilidades de tener esta fracción. En apariencia los individuos con eritrocitos del grupo A se unen con la ALP. Además, en estos individuos los incrementos de ALP intestinal ocurren después de consumir una comida grasosa.
Placenta	Es la isoenzima más termoestable, resiste la desnaturalización térmica por 30 minutos a $65^\circ C$, 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.

Técnica

Seguir las indicaciones del proveedor

Rangos de Referencia

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

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>>*

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.

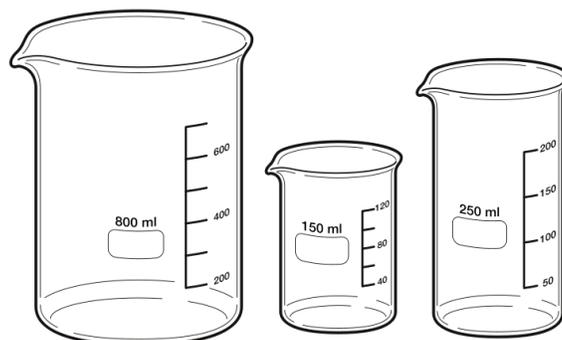
- **Material para Contener (To Contain → TC):** Este tipo de material agrupa a los recipientes que se emplean para contener o almacenar líquidos, soluciones o productos de reacciones como precipitados o cristales. Algunos pueden ser fabricados para contener volúmenes exactos sin posibilidad de medir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



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.



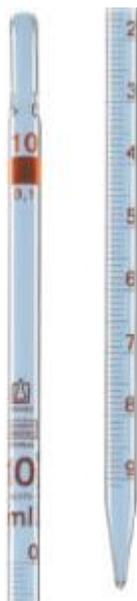
El matraz aforado se utiliza para preparar soluciones estándar o de concentración exacta y para diluir muestras. La tolerancia va de 0.02 a 0.5 mL según la capacidad del matraz, a mayor volumen mayor tolerancia.

Pipetas

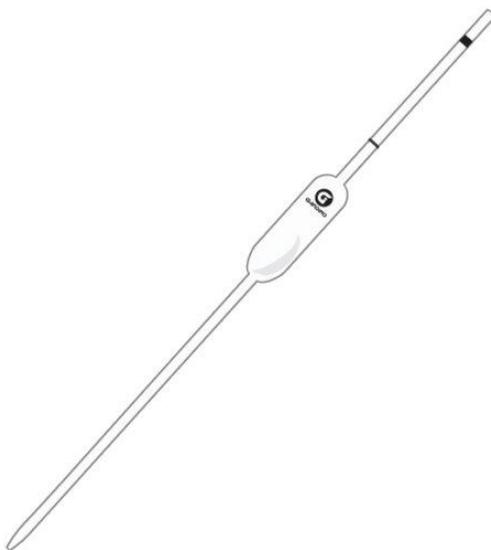
Son tubos de diámetro uniforme o ensanchado con un extremo terminado en punta, pueden estar graduadas o con una sola marca (línea de aforo) de acuerdo a estas diferencias podemos clasificarlas como **Graduadas** y **Volumétricas**.

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 se soplen para verter el volumen completo.



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



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



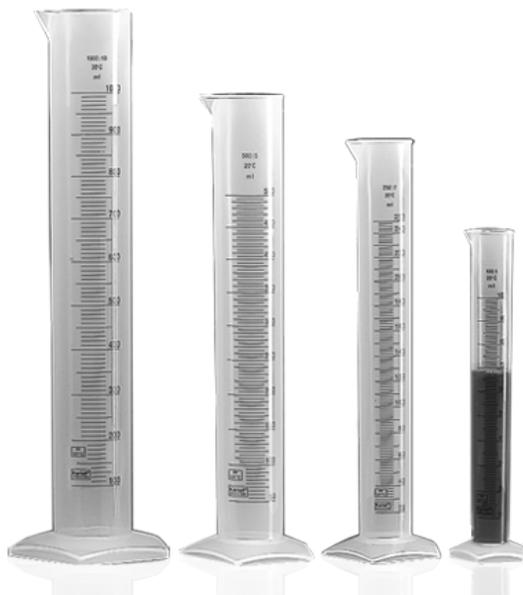
Para un uso adecuado se requieren considerar los siguientes aspectos:

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

Probetas

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

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



Perilla de Seguridad

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

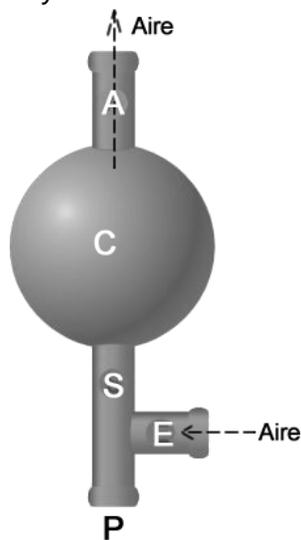


Figura de una propipeta mostrando las zonas utilizadas; **A** = Aspirate (aspirar); **C** = Zona central; **S** = Suck up (succionar); **E** = Empty (vaciar) y **P** = Pipeta así como el flujo de aire.

La técnica de uso es la siguiente:

1. Se coloca 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.

Anexo 2: Preparación de Soluciones Porcentuales (%)

Marco Teórico

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**)

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 cuantitativas 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:

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

Problema

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

Respuestas

- 1.1 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.
- 1.2 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)**.

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

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

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

Recordar que...

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

Anexo 3: Espectrofotómetro

Objetivos

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

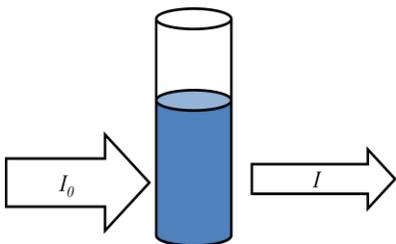
Marco Teórico

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:

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

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.

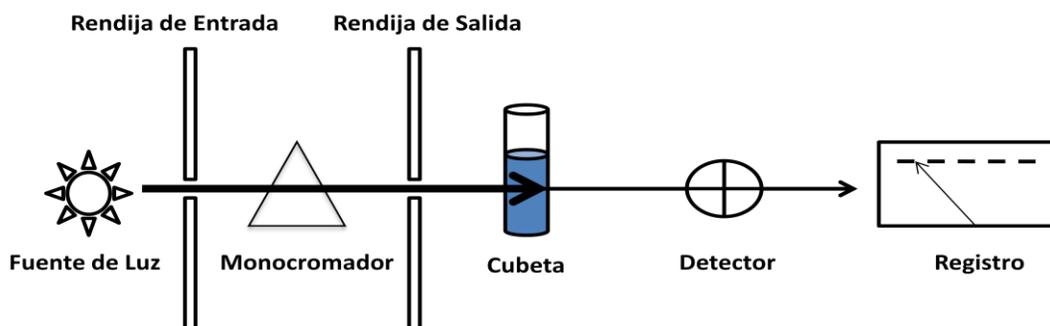


Figura 1.- Esquema de un espectrofotómetro.

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 esta 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 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.



Utilizar cubetas cuadradas de 10 mm, tubos de ensayo de 10 mm o los tubos de 1/2 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 ensaye con los números del 1 al 3.
- Rotular dos tubos de ensaye con la leyenda **Blanco** y **Problema**.
- Agregar a cada tubo la cantidad de agua destilada y solución de azul de metileno, según la siguiente tabla:

Tubo	Tubo				
	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

- 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.
- Interpolarse 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].

Anexo 4: Centrifuga.

Objetivo.

- Aprender el manejo de la centrifuga 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.

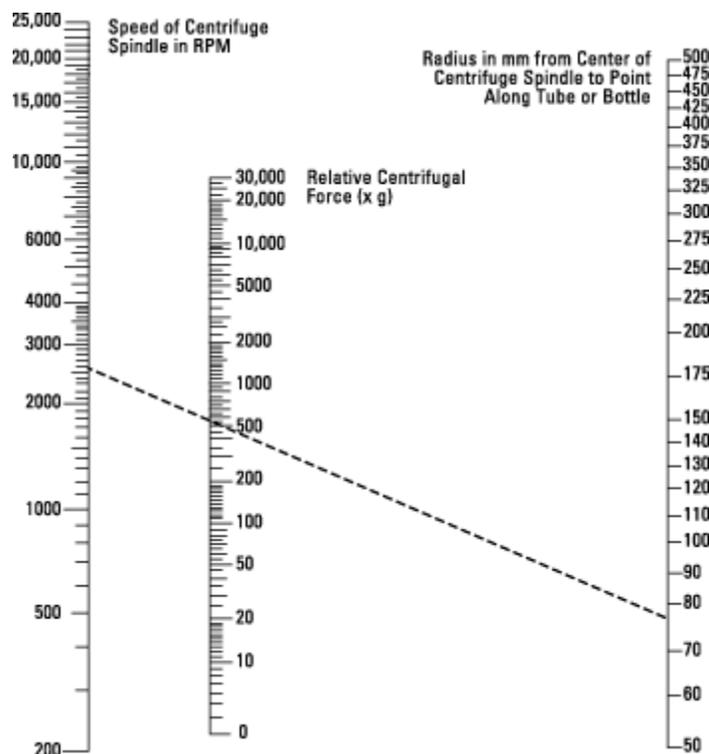
La centrifugación es una técnica de separación basada en el movimiento de las partículas impulsadas por una fuerza denominada **centrífuga**, que tiende a desplazarlas lejos del centro de rotación. Separa las partículas de una muestra, de acuerdo con su masa, su forma, la velocidad y el radio de giro (**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 centrifugas 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 centrifugas 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 centrifuga, 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 Centrifuga (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.



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.

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 centrifuga 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.
- Centrifuga

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 centrifuga.
5. Centrifugar a 2000 rpm durante 3 minutos teniendo cuidado de arrancar la centrifuga 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.

Cuestionario

1. ¿Para qué sirve la centrifuga?
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

Anexo 5: Manejo de Residuos Biológicos-Infeciosos

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

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
-------------------	-------------------------	--------------------------

⁵ Objetos contaminados con fluidos biológicos.

Agujas	Gasas	Empaques de jeringas
Aplicadores	Guantes	Jeringas
Capilares	Tapones de tubo	Protectores de agujas
Jeringas	Torundas	Tapones de tubo
Lancetas		Tubos
Portaobjetos		
Tubosrotos		

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 anticoagulada 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

Referencias

- Moto, SE., 1978. Elementos de derecho, México: Editorial Porrúa.
- Floresgómez, GF. y Carbajal, MG., 2007. Nociones de Derecho Positivo Mexicano, México: Editorial Porrúa.
- Secretaría 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.

⁶ Objetos no contaminados con fluidos biológicos o inactivados.

- *Secretaría de Salud, 2009. Listado de Normas Oficiales Mexicanas de la Secretaría de Salud. [On line] Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nomssa.html> [Acceso 16 de noviembre 2009]*

Anexo 6: Preparación de Reactivos y Soluciones

Cromatografía de Aminoácidos

Patrones de aminoácidos:

- Para cada aminoácido (ácido glutámico, fenilalanina, glicina y metionina) pesar 100 mg y disolverlo en 10 mL de agua, adicionar 1.0 mL de HCl concentrado, rotular y guardar.

Butanol:Ácido Acético:Agua [8:2:2]

- Mezclar 144 mL de Butanol con 36 mL de ácido acético y 36 mL de agua.

Ninhidrina 0.3 % (p/v)

- Pesar 200 mg de ninhidrina y disolverla en 95 mL de butanol, completar a 100 mL con ácido acético al 10 %.

Anexo 7. 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)			
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)			
Bilirrubinas			
• Directa	≤0.3 mg/dL		≤ 5.1 µmol/L
• Indirecta	0.1-1.0 mg/dL	17.1	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

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 $\frac{1}{Factor}$, 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.

Anexo 8. Reglamento Académico para Laboratorio de bioquímica para la Carrera de Médico Cirujano

GRUPO DE RIESGO	NIVEL DE BIOSEGURIDAD	TIPO DE LABORATORIO	PRÁCTICAS DE LABORATORIO	EQUIPO DE SEGURIDAD
1	Básico Nivel 1	Enseñanza básica, investigación	TMA	Ninguno; trabajo en mesa de laboratorio al descubierto

Grupo de riesgo 1 (riesgo individual y poblacional por grupos escaso o nulo) Microorganismos que tienen pocas probabilidades de provocar enfermedades en el ser humano o los animales.

TMA: técnicas microbiológicas apropiadas

Referencia: Manual de Bioseguridad en el Laboratorio, OMS. Tercera Edición; Ginebra 2005.

Capítulo I: DISPOSICIONES GENERALES

- Artículo 1.** El presente reglamento deberá acatarse por todos los miembros de la comunidad académica del área de Bioquímica, personal del interlaboratorio, alumnado y por toda persona que haga uso de sus instalaciones.
- Artículo 2.** Queda prohibido comer, beber y fumar dentro del laboratorio.
- Artículo 3.** Durante la estancia en el laboratorio deberán apagarse teléfonos celulares y radio-localizadores.
- Artículo 4.** Queda prohibida la entrada a toda persona ajena al laboratorio.
- Artículo 5.** El material y equipo no debe sacarse del laboratorio sin autorización del maestro responsable del área con visto bueno del coordinador.
- Artículo 6.** Durante la clase no se permite la entrada a personas ajenas al grupo.

Capítulo II: REGLAMENTO CON RELACIÓN AL PROFESOR.

- Artículo 7.** No hay revalidación ni transferencia de calificaciones entre profesores.
- Artículo 8.** Es responsable de asistir a las actividades prácticas, a la impartición de sus cátedras y juntas en las fechas señaladas.
- Artículo 9.** Actualizará y enriquecerá sus conocimientos de la asignatura que imparte, en particular está obligado a asistir al laboratorio para preparar las prácticas nuevas o las que se hayan modificado.

- Artículo 10.** *Será responsable de atender y evaluar a los alumnos que se encuentren inscritos en su grupo y que de manera organizada se le hayan asignado para la evaluación por módulo.*
- Artículo 11.** *No tiene facultad para inscribir ni obligación de evaluar alumnos que no estén inscritos.*
- Artículo 12.** *Dará a conocer al inicio del módulo la forma de evaluación del curso y devolverá a los alumnos sus informes de práctica ya evaluados como máximo dos semanas después de entregado dicho informe.*
- Artículo 13.** *Los asuntos relacionados con el trabajo académico y entrega de calificaciones deben tratarse entre el alumno y el profesor, exclusivamente en las instalaciones del laboratorio respetando su horario de clase.*
- Artículo 14.** *Entregará, en la fecha establecida, calificaciones con el número de grupo de cada alumno al responsable del laboratorio, así como la información académica o la documentación que se le solicite.*
- Artículo 15.** *En las listas de las calificaciones finales deben aparecer todos y cada uno de los nombres de los alumnos, aunque hayan desertado o no hayan aprobado.*
- Artículo 16.** *Asumirá su autoridad como responsable del grupo propiciando el orden y el respeto recíproco con los alumnos y el personal del laboratorio.*
- Artículo 17.** *Impartirá las prácticas de Laboratorio que estén en la programación por módulo y de acuerdo al calendario anual.*
- Artículo 18.** *Iniciará y concluirá con puntualidad la sesión en el laboratorio; como caso de excepción, la práctica se iniciará con un máximo de quince minutos de retraso, en caso contrario la práctica no se podrá llevar a cabo.*
- Artículo 19.** *Solicitará a los alumnos que verifiquen e informen la existencia y el estado del equipo y materiales necesarios para cada práctica al recibirlos y supervisará su uso adecuado.*
- Artículo 20.** *El profesor es responsable de firmar de enterado la forma de adeudo de material y equipo en caso de que se suscite daño en el equipo o material suministrado a los alumnos.*
- Artículo 21.** *Indicará a sus alumnos, a más tardar quince minutos antes de terminar la clase, que entreguen el equipo y material de la práctica, de tal forma que el grupo siguiente pueda empezar puntualmente su clase.*
- Artículo 22.** *Debe retirarse cuando que los alumnos hayan entregado el equipo y desalojado el laboratorio.*
- Artículo 23.** *Mantendrá las puertas del laboratorio cerradas, mientras imparta su clase.*
- Artículo 24.** *Debe tomar las medidas correspondientes a su juicio, en caso de que un alumno no asista a una práctica, por causa de fuerza mayor, debidamente justificada.*
- Artículo 25.** *No debe solicitar a personas ajenas que reparta o reciba trabajos, informes, etc.*

Capítulo III: CON RELACIÓN AL ALUMNO

- Artículo 26.** Es obligatorio como mínimo el 80% de asistencia en el grupo asignado, en caso contrario se anotará NP en la lista del grupo, que significa no presentado.
- Artículo 27.** Entrará al laboratorio con un máximo de quince minutos de retraso, respecto a la hora de inicio de clase.
- Artículo 28.** Ningún alumno deberá entrar a clase de laboratorio en ausencia de su profesor.
- Artículo 29.** Cada alumno solicitará su credencial correspondiente al laboratorio de bioquímica con fotografía reciente.
- Artículo 30.** Es responsable del trato que se dé al material y equipo y las instalaciones del laboratorio, por tal motivo, tendrá la obligación de revisarlo y en caso de desperfecto o anomalía deberá reportarlo, de no hacerlo así, se retendrán las credenciales del responsable y se tomarán las medidas correctivas según la gravedad del caso.
- Artículo 31.** Es responsable de mantener limpio su lugar de trabajo.
- Artículo 32.** Si al término del módulo no se ha reparado o repuesto el material y/o equipo dañado, se informará al Departamento de Administración Escolar y el alumno no podrá inscribirse al siguiente semestre
- Artículo 33.** Sólo podrá efectuar prácticas de la asignatura correspondiente al laboratorio.
- Artículo 34.** Debe contar con la información relativa a las prácticas.
- Artículo 35.** Debe salir del laboratorio en cuanto el profesor indique que la práctica ha concluido (habiendo entregado previamente el equipo y material)
- Artículo 36.** En caso de padecer alguna enfermedad, alergia y/o estar en tratamiento médico, deberá indicarlo en la coordinación y al profesor con quien tome clase.
- Artículo 37.** Cualquier muestra de indisciplina podrá ameritar que el alumno sea expulsado de la sesión (todo tipo de conducta inadecuada o acción que cause distracción y ponga en peligro la integridad de otras personas) lo que automáticamente se tomará como inasistencia.
- Artículo 38.** Presentará los exámenes si existen, exclusivamente con su profesor.

Capítulo IV: CON RELACIÓN A LA HIGIENE Y SEGURIDAD

- Artículo 39.** No deben desecharse sustancias tóxicas o residuos sólidos en las tarjas.
- Artículo 40.** Hacer uso adecuado de la energía eléctrica, del agua y del gas.

- Artículo 41.** Debe seguirse el procedimiento apropiado, de seguridad y operación de los equipos, materiales y sustancias que pongan en riesgo la integridad física de quien los utilice.
- Artículo 42.** No deben colocarse muebles u otros objetos que obstruyan la puerta.
- Artículo 43.** No se usarán gorras ni zapatos descubiertos dentro de las instalaciones.
- Artículo 44.** No se portarán alhajas durante la realización de las prácticas y las personas con cabello largo deberán traerlo recogido; éstas indicaciones incluyen la sesión del examen del laboratorio.
- Artículo 45.** Las manos deben lavarse después de cualquier operación que implique el contacto con cualquier sustancia química.
- Artículo 46.** Cuando se manipulen sustancias químicas no deben frotarse los ojos y debe evitarse el contacto con la piel.
- Artículo 47.** Por ningún motivo se debe ingerir sustancia química alguna.

Capítulo V: DISPOSICIONES ADICIONALES

- Artículo 48.** Se portará bata de algodón de manga larga dentro de las instalaciones del laboratorio y ésta deberá estar abotonada.
- Artículo 49.** Por seguridad, no se usarán lentes de contacto.
- Artículo 50.** No se debe oler directamente sustancia química alguna para su identificación, ya que puede ser nociva o tóxica.
- Artículo 51.** Las reacciones químicas deberán ser vigiladas en todo momento por los maestros asesores.
- Artículo 52.** Todas aquellas situaciones no previstas en este reglamento, deberá ser consultado con los profesores del grupo.