



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA



Carrera Química Farmacéutico Biológica

Área Bioquímica Clínica

Manual de Laboratorio Química Clínica

**APROBADO POR EL COMITÉ ACADÉMICO DE CARRERA
24 DE FEBRERO DE 2017**

SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS
LABORATORIOS DE DOCENCIA

Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	1 / 143

Carrera Química Farmacéutico Biológica

Área Bioquímica Clínica

Manual de Laboratorio
Química Clínica

Dra. Martha Asunción Sánchez Rodríguez

APROBADO POR EL COMITÉ ACADEMICO DE CARRERA
24 DE FEBRERO DE 2017



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	2 / 143

Índice

	Página
Agradecimientos	4
Prólogo	5
Introducción	6
1 Garantía de calidad y control de calidad interno	7
1.1 Verificación del funcionamiento del espectrofotómetro.....	8
1.1.1 Verificación de la longitud de onda utilizando el disco de Newton.....	9
1.1.2 Linealidad espectrofotométrica con anaranjado de metilo....	9
1.1.3 Calibración de cubetas.....	10
1.2 Puntos isobécticos. Uso de las pipetas.....	12
1.2.1 Determinación de puntos Isobécticos del rojo de cresol....	13
1.2.2 Determinación de puntos Isobécticos del rojo Congo.....	13
1.2.3 Pipeteo.....	14
2 Glucosa	16
2.1 Método de Glucosa Oxidasa-Peroxidasa (GOD-PAP ó Trinder)....	17
2.2 Método de Glucosa Hexoquinasa.....	18
3 Proteínas séricas	21
3.1 Proteínas totales.....	22
3.2 Fraccionamiento de proteínas.....	24
3.2.1 Albúmina.....	25
4 Perfil de lípidos	27
4.1 Colesterol total.....	28
4.2 Triglicéridos.....	29
4.3 HDL-colesterol, LDL-colesterol y colesterol-no-HDL.....	31
5 Iones séricos (electrolitos)	35
5.1 Sodio y Potasio.....	36
5.2 Cloruros.....	38
5.3 Calcio y Fosfato.....	41
5.3.1 Calcio.....	42
5.3.2 Fosfato.....	43
6 Elementos trazas	46
6.1 Hierro sérico.....	47
7 Análisis gasométrico	50
8 Perfil bioquímico renal	53
8.1 Urea.....	54
8.1.1 Método de Berthelot.....	55
8.1.2 Método de o-ftalaldehído.....	57



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	3 / 143

8.2	Ácido úrico.....	59
8.3	Creatinina.....	62
8.3.1	Método de Jaffé.....	63
8.3.2	Método Trinder.....	64
8.4	Análisis general de orina.....	68
8.4.1	Examen físico.....	69
8.4.2	Examen químico.....	71
8.4.3	Examen de sedimento urinario.....	74
9	Perfil bioquímico hepático.....	78
9.1	Bilirrubinas.....	79
10	Perfil enzimático hepático.....	83
10.1	Aminotransferasas (ALT y AST).....	83
10.1.1	Método Reitman-Frankel.....	84
10.1.2	Método cinético.....	88
10.2	Colinesterasa (CHE) y γ -glutamil transferasa (GGT).....	93
10.2.1	Colinesterasa (CHE).....	93
10.2.2	γ -glutamil transferasa (GGT).....	95
11	Perfil enzimático cardíaco.....	99
11.1	Creatina cinasa (CK).....	99
11.2	CK-MB.....	102
11.3	Lactato deshidrogenasa (LDH).....	104
11.4	LD ₁ o Hidroxibutirato deshidrogenasa (HBDH).....	106
12	Perfil enzimático pancreático.....	109
12.1	α -Amilasa (AMS).....	109
13	Enzimas de procesos malignos.....	113
13.1	Lipasa sérica (LPS).....	114
13.2	Fosfatasas.....	117
13.2.1	Fosfatasa alcalina (ALP).....	117
13.2.2	Fosfatasa ácida (ACP).....	121
14	Análisis de líquido seminal.....	124
14.1	Examen físico.....	125
14.2	Examen microscópico.....	125
15	Análisis de líquido cefalorraquídeo (LCR).....	129
16	Análisis de hormonas.....	132
17	Automatización en Química Clínica.....	135
	Anexo. Preparación de reactivos.....	138
	Bibliografía general.....	142



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE QUÍMICA CLÍNICA



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	4 / 143

AGRADECIMIENTOS

A los profesores de laboratorio que aportaron ideas y referencias bibliográficas para este manual:

QFB. MA. DEL PILAR CEDILLO MARTÍNEZ

QFB. CESAR OCTAVIO JIMÉNEZ PIERRE



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	5 / 143

PROLOGO

La Bioquímica Clínica es una herramienta del diagnóstico médico que es dinámica y va cambiando conforme la ciencia médica lo va haciendo.

En el presente manual se encuentran una serie de procedimientos, a manera de prácticas, de importancia diagnóstica y que se considera que el alumno debe conocer, pero de ninguna manera es todo lo que la Química Clínica abarca. Cada práctica incluye el procedimiento analítico, un seminario para exposición, un cuestionario y una corta bibliografía de apoyo, específica para el tema que se está tratando, y que es complementaria a la que se presenta al final del manual.

En esta 4ª versión de este manual, se incluyen las técnicas predominantes en la rutina. Aunque en la actualidad para la mayoría de las determinaciones el procesamiento de las muestras en Química Clínica es automatizado, es importante que, en un primer contacto, éstas se realicen manualmente para comprender el fundamento y poder detectar los posibles errores cuando se realicen en un equipo automatizado.

En varias prácticas se presentan metodologías diferentes debido a que existen comercialmente diversas alternativas de medición.

Con la estructura de las actividades planteadas en este manual se pretende que el alumno conozca las diferentes determinaciones que son de apoyo diagnóstico y su interpretación clínica, y de esta forma obtengan una formación para laborar como profesionales de la Química Clínica.

DRA. MARTHA A. SÁNCHEZ RODRÍGUEZ



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	6 / 143

INTRODUCCIÓN

Hoy en día, se considera que la Química Clínica comprende una actividad analítica central, concerniente a la composición química de materiales y elementos biológicos, como: sangre, orina, células, tejidos, órganos, secreciones, excreciones, etc., necesaria para el diagnóstico, pronóstico, tratamiento, control de tratamiento e investigaciones relacionadas con la enfermedad. Por tanto, podemos decir que es una parte esencial de la Medicina, considerándose como una extensión de la exploración física, por lo que es un apoyo fundamental para el profesional de la salud (médico, odontólogo, psicólogo).

Una de las personas encargadas de trabajar en la Química Clínica es el QFB; por ello, con este manual se pretende preparar al alumno de QFB con orientación Bioquímica Clínica para el enfrentamiento con la realidad profesional y crearle la conciencia del importante papel que desempeña dentro del equipo de salud.

Aunque en la actualidad la mayoría de los laboratorios clínicos ya cuentan con metodologías que incluyen el uso de equipos automatizados y semiautomatizados, es importante que el químico clínico conozca los métodos manuales ya que con ello comprenderá los fundamentos de las técnicas y la interpretación clínica de las diferentes determinaciones.

Un aspecto básico para establecer la confianza del resultado de un procesamiento analítico es el control de calidad. Esta herramienta se ha convertido en un eje central para los laboratorios clínicos en los últimos años, principalmente en el estudio de la Química Clínica, por lo que este manual comienza con ese importante tema; posteriormente se encuentran las prácticas.

Otro punto importante es el reporte de los resultados. A nivel internacional cada vez es más común el uso del Sistema Internacional de Unidades (SI) para el informe de los parámetros de laboratorio, por lo cual se anexa en cada apartado el factor de conversión de unidades tradicionales a unidades SI y los valores de referencia en ambas unidades.

Se incluyen también algunos procedimientos que no pueden ser realizados en la facultad por riesgo o falta de equipo, que son tratados como seminarios, para cubrir la mayoría de las pruebas diagnósticas de Química Clínica.

Es importante resaltar que más del 90% de la bibliografía señalada en cada actividad de laboratorio es de acceso libre y puede obtenerse de las bases de datos *PubMed*, *medigraphic*, *Imbiomed* o *redalyc*, la primera para referencias en inglés y las tres últimas en español; y toda la bibliografía general está disponible en las bibliotecas de la facultad.

Finalmente, en el anexo se encuentra la preparación de soluciones necesarias para algunos procedimientos, las cuáles están identificadas con un número entre paréntesis en el apartado correspondiente.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	7 / 143

1. GARANTÍA DE CALIDAD Y CONTROL DE CALIDAD INTERNO

La relación de los servicios de medicina clínica y los de laboratorio clínico, no puede restringirse únicamente a la solicitud de exámenes por parte de unos, y a la toma de muestras y análisis de los especímenes de los otros. El laboratorio clínico no es una fábrica de bioanálisis, en él, los informes de las mediciones deben evaluarse, correlacionarse entre sí, conocer el valor de las estadísticas, de su variación, la sensibilidad y especificidad de los métodos; todo esto con fines interpretativos adecuados y garantizando la confianza en ellos.

En este sentido, actualmente se habla de garantía de calidad en los laboratorios clínicos, la cual comprende un programa total de normas y procedimientos que asegura de manera continua que los servicios, productos o resultados son confiables, pertinentes y oportunos. Los componentes básicos de los sistemas de garantía de calidad son: control de calidad interno, evaluación externa del desempeño, trazabilidad, auditorias, educación continuada, bioseguridad, mantenimiento de equipos e infraestructura y documentación de todo lo anterior, entre otros, y está regulado a través de la NOM-007-SSA3-2011.

Se define como control de calidad Interno al conjunto de acciones que se aplican durante la ejecución de cada prueba para asegurar que los resultados, productos o servicios pueden ser entregados, y que el médico y el paciente obtengan una información correcta en el menor tiempo posible. Es considerado un problema multifasético que va más allá de la inclusión de materiales con valores conocidos en cada una de las pruebas que se efectúan en el laboratorio, ya que abarca desde las instrucciones a los pacientes y toma de muestras hasta la entrega de los resultados.

La parte del control de calidad interno en la que haremos más énfasis en este manual es la llamada analítica o examen, que es la fase en la que se realizan las mediciones y observaciones de los especímenes.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	8 / 143

1.1 VERIFICACIÓN DEL FUNCIONAMIENTO DEL ESPECTROFOTÓMETRO

Objetivos

- Aprender a verificar el funcionamiento del espectrofotómetro, que es el instrumento de trabajo diario en el laboratorio de análisis clínicos.
- Conocer el funcionamiento y la manera de detectar problemas en el espectrofotómetro.

Introducción

En el trabajo diario en el laboratorio de análisis clínicos, es conocido que la mayoría de las mediciones químicas se realizan a través de la cantidad de energía radiante absorbida por una solución; para ello utilizamos el espectrofotómetro, ya sea como instrumento único o integrado a un equipo automatizado o semiautomatizado. De aquí que sea de suma importancia su mantenimiento y verificación de funcionalidad.

El tener un espectrofotómetro en mal estado implica entregar resultados erróneos para un paciente, por ello debe verificarse que emite las longitudes de onda adecuadas desde el momento de la compra y consecuentemente al usarse, considerando la vida de la lámpara, llevando un mantenimiento preventivo, etc.

En la actualidad, ya no es posible que nosotros calibremos los equipos, pues son sistemas cerrados, pero si es factible verificar el funcionamiento, aunque sean equipos semiautomatizados con fotocolorímetros de filtros, y así hacer el reporte de las desviaciones para su compostura.

Por procedimientos muy simples y poco costosos, es posible revisar el funcionamiento del aparato. Cabe mencionar, que no son métodos muy modernos ni muy exactos, pero nos dan una muy buena idea de cómo se encuentran, siendo entonces posible detectar los principales problemas que pueden ocurrir al mismo.

Material

- Espectrofotómetro
- Hoja de papel blanco
- Soluciones de anaranjado de metilo en concentraciones de: 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 mg/dL..... (1-6)
- Tubos de ensayo de 13X100 mm
- Celdas para espectrofotómetro



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	9 / 143

1.1.1 Verificación de la longitud de onda utilizando el disco de Newton

Técnica

Sólo es aplicable a espectrofotómetros de barrido.

Hacer una tira de papel blanco de un tamaño que entre en la celda del espectrofotómetro y barrer el espectro a partir de la menor longitud de onda a la mayor. Colocar el ojo en la celda, de tal manera que se pueda ver el color de la luz reflejada en el papel, si es necesario, tape la luz externa lo más que pueda para observar la luz. Observar que coincidan los colores con la longitud de onda marcada en el centro de cada color de acuerdo al disco (Figura 1).

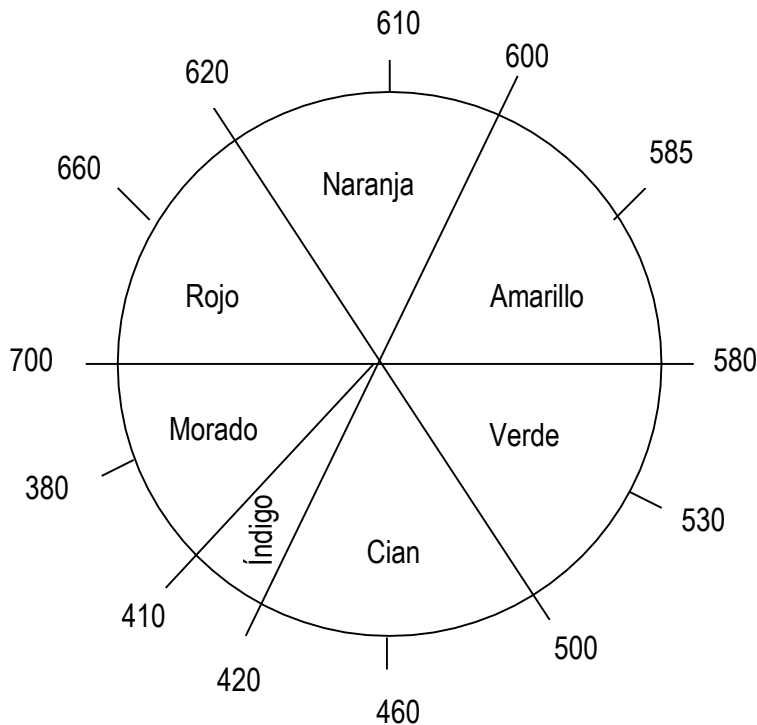


Figura 1. Representación del disco de Newton para verificación de la longitud de onda. Los puntos marcados son los valores de la longitud de onda en nm.

1.1.2 Linealidad espectrofotométrica con anaranjado de metilo

Fundamento

El anaranjado de metilo en diferentes concentraciones proporciona una curva que cumple exactamente con la Ley de Lambert-Beer proporcionando una línea recta perfecta.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	10 / 143

Técnica

Medir las absorciones de las soluciones de anaranjado de metilo a las concentraciones: 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 mg/dL, a 465 nm.

Realizar una gráfica de absorción vs. concentración en papel milimétrico, calcular la regresión para verificar la línea perfecta (valor $r = 0.999$).

1.1.3 Calibración de cubetas

Hoy en día, el precio de las cubetas o celdas ha aumentado considerablemente, por lo que se hace necesario calibrar nuestros tubos para poder emplearlos como celdas. Esto es posible si los tubos son de marca conocida (Pyrex o Kimax) y nuevos, ya que aseguran las paredes lisas y un cristal homogéneo.

Técnica

Llenar una celda con agua destilada y ajustar a 0 de absorción a 585 nm, después llevar la escala del espectrofotómetro al 50% de transmisión. Colocar el tubo seleccionado, también con agua destilada en el portacubetas, y tomar la lectura, la cual no deberá variar más que en $\pm 1\%$. Si varía más, rote el tubo hasta que obtenga la variación mínima. Marcar los tubos en la variación mínima y tratarlos como celdas posteriormente.

Seminario: ESPECTROFOTOMETRÍA

Cuestionario

1. ¿Qué importancia tiene conocer el disco de Newton en espectrofotometría?
2. ¿Cuál es el fundamento de la ley de Lambert-Beer?
3. Haga el esquema de un espectrofotómetro simple y señale sus principales partes.
4. Defina qué es:
 1. Linealidad espectrofotométrica
 2. Curva de calibración
 3. Luz monocromática
 4. Ancho de banda
 5. Luz extraña, espuria o parásita
5. ¿Cómo se verifica la exactitud y linealidad fotométrica en un equipo automatizado?



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	11 / 143

Bibliografía

- Duymovich C, Acheme R, Sesini S, Mazziotta D. Espectrofotómetros y fotocolorímetros. Guía práctica de actualización. Acta Bioquím Clín Latinoam 2005; 39(4): 529-39.
- Meltzer R. Absorbance nonlinearity resulting from stray light: quantify the effect. Clin Chem 1992; 38: 1027.
- Murali-Dharan M S. Control de calidad en los laboratorios clínicos. España: Reverté; 1992.
- Alva S, Benito M C, Cabañas E, Pizano F. Programa de evaluación de la calidad entre laboratorios. I Diagnóstico del funcionamiento de fotómetros. Laborat-acta 1991; 3(2): 17-19.
- Federación Internacional de Química Clínica. Pauta provisional (1979) de lista de especificaciones de espectrofotómetros en química clínica. Bioquímica 1981; 3: 748-52.
- Frigs Ch, Broussard L. Calibration and monitoring of spectrometers and spectrophotometers. Clin Chem 1979; 25: 1013-7.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	12 / 143

1.2 PUNTOS ISOBÉSTICOS. USO DE LAS PIPETAS

Objetivos

- Determinar el uso de los puntos isobésticos para la verificación de la longitud de onda espectrofotométrica.
- Calcular la precisión de la medición con pipetas serológicas de cada alumno.

Introducción

Continuando con la verificación del correcto funcionamiento del espectrofotómetro, también se puede hacer uso de los puntos isobésticos para verificación de la longitud de onda. Los puntos isobésticos permiten encontrar una concordancia entre la longitud de onda que indica el selector del espectrofotómetro y la longitud de onda de referencia.

Otra herramienta importante para el trabajo analítico es el material de laboratorio que cumple con funciones primarias de contención, medición y realización de reacciones. Los utensilios más utilizados están contruidos en vidrio, aunque hay muchos, actualmente, en una variedad de plásticos.

Existen muchas variedades de material de vidrio disponible comercialmente que varían en su resistencia a la tracción, el calor y la luz. Dado que los vidrios blandos no son recomendables para el laboratorio, la mayor parte de los utensilios están contruidos en vidrio de borosilicato.

Así mismo, en la mayoría de los métodos de Química Clínica se requieren mediciones de volumen exactas. En el trabajo de precisión nunca es seguro suponer que el volumen contenido o extraído de un material de medición es exactamente el indicado por la marca de graduación. Idealmente todo material volumétrico habrá de compararse con un certificado de calibrado o ser calibrado por un analista.

Dentro del material volumétrico más empleado en los análisis clínicos están las pipetas, instrumentos de vidrio, plástico o pistón empleados para dispensar, contener y medir volúmenes. Siendo éstas de suma importancia en los análisis químicos, es necesario que sepamos emplearlas correctamente ya que es una herramienta en el trabajo cotidiano.

Material

- 10 tubos de ensayo de 18X150 mm
- 3 tubos de ensayo de 13X100 mm
- 1 pipeta graduada de 10 mL
- 1 pipeta graduada de 1 mL
- Solución madre de rojo de cresol al 1%..... (7)
- Solución de rojo Congo 14 mg/L.....(8)
- Solución de dicromato de potasio al 10%.....(9)



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	13 / 143

- Espectrofotómetro

1.2.1 Determinación de puntos Isobésticos del rojo de cresol

Fundamento

El rojo de cresol (o-cresolsulfonftaleína) es un indicador de pH muy sensible que tiene dos virajes de color: uno de pH 0.0 a 1.0 (rojo a amarillo) y otro de pH 7.0 a 8.8 (amarillo a púrpura). Esto significa que su espectro en la región visible es diferente en solución ácida o alcalina y en el intervalo de pH de 1.0 a 7.0.

Técnica

Preparar tres diluciones a partir de la solución madre de rojo de cresol para obtener una concentración de 0.0005% del colorante en medio ácido, alcalino y a pH 4.0 como sigue:

Añadir 100µL de la solución madre a:

- 100 mL de ácido sulfúrico (500 mmol/L).....(10)
- 100 mL de hidróxido de sodio (500 mmol/L).....(11)
- 100 mL de solución amortiguadora pH 4.0.

Las soluciones ácida y básica sólo son estables por 1 hora.

Medir la absorción de cada solución contra blanco de agua en el espectrofotómetro variando la longitud de onda a intervalos de 20 nm desde 360 hasta 700 nm.

Realizar las gráficas de absorción contra longitud de onda para cada solución en un mismo papel milimétrico.

1.2.2 Determinación de puntos Isobésticos del rojo Congo

Fundamento

El rojo Congo tiene la particularidad de que los espectros de las formas ácida y básica en igual concentración presentan la misma absorción a una longitud de onda denominada punto isobéstico.

Técnica

Preparar dos disoluciones a partir de la solución de rojo Congo, una ácida y otra alcalina:

Añadir 5 mL de la solución de rojo Congo a un tubo A (ácido) y tubo B (alcalino). Las soluciones son estables 1 hora.

- Al tubo A agregarle 20 µL de ácido clorhídrico 5N.....(12)
- Al tubo B añadirle 20 µL de hidróxido de sodio 5N.....(13)

Ajustar el espectrofotómetro con blanco de agua a 520 nm. Medir la absorción de cada solución en el espectrofotómetro a las siguientes longitudes de onda: 520, 525, 530, 535, después variando un nm hasta 545, 550, 560, 570 nm, sin volver a ajustar a 0.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	14 / 143

Realizar las gráficas de absorción contra longitud de onda para cada solución en un mismo papel milimétrico. El punto isobéptico teórico en las condiciones de experimentación es 541 nm.

Cálculos: obtener el corrimiento que presenta el instrumento de la siguiente manera:

$$\lambda_{\text{teórico}} - \lambda_{\text{real}} = \lambda_{\text{teórico}} - \lambda_{\text{real}}$$

Interpretación

Intervalo óptimo: Corrimiento entre ± 2 nm

Límites de aceptabilidad: Corrimiento entre ± 3 nm

1.2.3 Pipeteo

Técnica

Diluir la solución madre de dicromato de potasio 1:50 con agua destilada 10 veces por persona en tubos por separado. Usar para ello pipetas de 10 mL y de 1.0 mL. Mezclar cuidadosamente cada tubo y leer contra blanco de agua a 507 nm.

Calcular: media, desviación estándar y coeficiente de variación para cada analista.

*NOTA: Si derrama algo de solución, limpie inmediatamente con abundante agua.

Interpretación

Precisión óptima: %CV < 5%

Precisión aceptable: %CV 5 – 10%

Seminario: TIPO Y USO DE LAS PIPETAS

Cuestionario

- ¿Por qué los puntos isobépticos permiten verificar el corrimiento de la longitud de onda de un espectrofotómetro? Explique su respuesta.
- Diga cuál es la diferencia entre una pipeta Mohr y una serológica.
- Describe como se realiza la medición con una pipeta de vidrio y con una de pistón.
- Describe de qué forma se pueden calibrar las pipetas de pistón.
- Defina que es exactitud y que es precisión.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	15 / 143

Bibliografía

- CENAM-EMA. Guía técnica sobre trazabilidad e incertidumbre en los servicios de calibración de recipientes volumétricos por el método gravimétrico. México: 2009. Disponible en:
http://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/36565923/_pdf_calibracion_CALIBRACION.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAJ56TQJRTWSMTNPEA&Expires=1483480962&Signature=1kWH%2FLwCPpYuqC6DGgW8N%2FNDOQ4%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DGuia_GUIA_TECNICA_SOBRE_TRAZABILIDAD_E_I.pdf.
- Duymovich C, Acheme R, Sesini S, Mazziotta D. Espectrofotómetros y fotocolorímetros. Guía práctica de actualización. Acta Bioquím Clín Latinoam 2005; 39(4): 529-39.
- Trujillo-Juárez S, Morales-Estrada AI. Variación de los resultados de medición de volumen en las pipetas de pistón respecto de las condiciones de uso de la punta desechable y la humedad del ambiente. Simposio de Metrología 2004, 25 al 27 de octubre. Disponible en: <http://www.cenam.mx/fyv/publicaciones/ta-064.pdf>
- Alva-Estrada S, Uhtthoff-Brito EC, Fuentes-Mancilla LM, Cabañas-Cortés EM. Programa de evaluación de la calidad entre laboratorios. XX. Verificación del uso y funcionamiento de micropipetas. Lab-acta 1998; 10: 115-8.
- Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica. Curso teórico-práctico de entrenamiento para tutores en química clínica. México: Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica. 1989.
- Manual de Prácticas de Laboratorio de Ciencia Básica I. México: FES Zaragoza, UNAM.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	16 / 143

2. GLUCOSA

Objetivos

- Cuantificar la concentración de glucosa en una muestra biológica por un método enzimático.
- Interpretar el resultado en un contexto clínico.

Introducción

La concentración de glucosa es uniforme en la fase acuosa del plasma y eritrocitos. El plasma contiene aproximadamente 12% más agua que la sangre completa, de aquí se deduce que la cantidad total de glucosa en 100 mL de plasma es aproximadamente 12% menor que en 100 mL de sangre completa.

Es importante tomar en cuenta que la concentración de glucosa varía en el eritrocito, la sangre completa y el plasma, por ello se ha decidido convencionalmente que las determinaciones de glucosa se realicen en plasma o suero, para evitar confusiones de interpretación clínica debido a la discrepancia de los valores. Así mismo, la sangre posee componentes reductores, como los compuestos sulfhidrúlicos, glutatona y ergotioneína que se encuentran en los eritrocitos, incrementando con algunos métodos el valor total de glucosa en sangre completa en aproximadamente 20 mg/dL sobre el valor "real".

Antiguamente las determinaciones se hacían por métodos químicos, pero ninguno era específico para la glucosa; por lo que se desarrollaron nuevas tecnologías en donde el empleo de enzimas es un procedimiento alternativo para conseguir una mayor especificidad.

Se utilizan dos enzimas específicas para la determinación de glucosa, la glucosa oxidasa y la glucosa hexoquinasa

Obviamente, estos métodos son comerciales, pues es necesario que la enzima esté purificada para que se pueda efectuar la reacción, además de que son metodologías que incluyen una cadena de reacciones acopladas para obtener, finalmente, un producto que sea fácilmente leíble en el espectrofotómetro.

La determinación de la glucosa sanguínea es un parámetro básico en la clínica, de tal forma que es el componente de la química sanguínea que más se procesa en los laboratorios clínicos, ya que el médico y el odontólogo lo solicitan por diferentes circunstancias como conocer el estado de salud de un paciente, control de embarazo, control de diabetes, parte de los prequirúrgicos, etc.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	17 / 143

2.1 MÉTODO DE GLUCOSA OXIDASA-PEROXIDASA (GOD-PAP Ó TRINDER)

Esta enzima fue descubierta por Müller en 1928 y es específica para β -D-glucosa. En el organismo la glucosa se encuentra de forma α en un 36% y de forma β en un 64% y se conoce que la GOD sólo reacciona con la forma β ; por ello, la oxidación de la glucosa sanguínea requiere de una mutorrotación de la forma α a la β para hacer una cuantificación total. Algunos preparados comerciales de GOD contienen una enzima mutorrotasa que acelera la reacción. Este método se ha adaptado a equipos automatizados con mucho éxito.

Fundamento y reacción:

La glucosa oxidasa (GOD) oxida a la glucosa según la reacción:

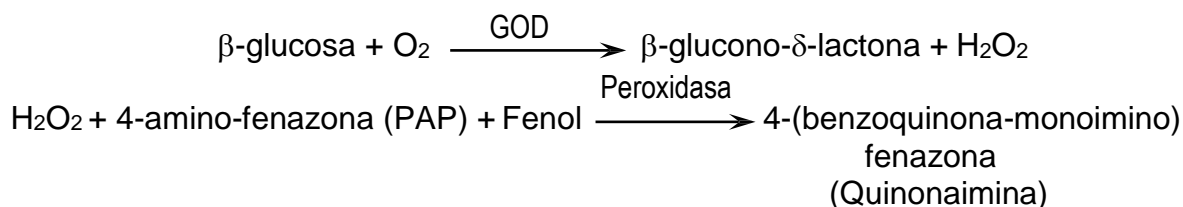


Figura 2. Reacción de determinación de glucosa por el método de GOD-PAP.
Tomado de: Pesce y Kaplan 1990.

Reactivos: estuche comercial para la determinación de glucosa por este método.

Material biológico: suero, plasma o cualquier líquido biológico.

Técnica

Debido a que el procedimiento es dependiente del estuche comercial que se tenga para la práctica, la metodología no será incluida. Debe seguirse al pie de la letra el procedimiento especificado y tomar en cuenta si existen notas aclaratorias.

**NOTA:* Generalmente los procedimientos son microtécnicas, por lo cual el volumen final es de 500 o 1000 μL , tomar en cuenta esto, pues las celdas del Spectronic 20 necesita un volumen mínimo de 2.5 mL, lo que hace necesario que se dupliquen o tripliquen las cantidades equivalentemente.

Cálculos: los indicados en el procedimiento del estuche utilizado.

Factores de conversión: $\text{mg/dL} = \text{g/L} \times 0.055$

$\text{g/dL} = \text{g/L} \times 10$



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	18 / 143

Valores de referencia

Muestra	Tradicional	SI
Sangre total, suero o plasma	50 – 100 mg/dL	2.8 – 5.6 mmol/L
LCR (lumbar)	45 – 70 mg/dL	2.5 – 3.9 mmol/L
Orina	Hasta 30 mg/dL	Hasta 1.7 mmol/L

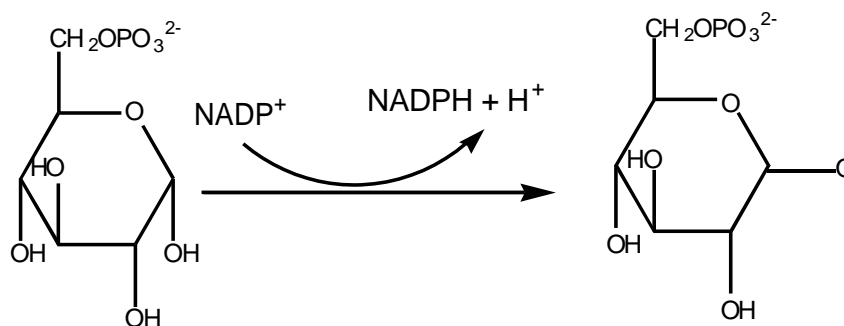
2.2 MÉTODO DE GLUCOSA HEXOQUINASA

Este procedimiento habitualmente se ha empleado para la determinación de glucosa en sangre, orina y líquido cefalorraquídeo y da resultados que coinciden excelentemente con las técnicas con base en Glucosa-oxidasa. Este se ha adaptado también a equipos automatizados. Es el método considerado como de referencia, aunque no tan popular como el GOD-PAP porque su medición es en UV.

Fundamento

La *hexoquinasa (HK)* cataliza la fosforilación de la glucosa por el trifosfato de adenosina (ATP) para formar glucosa-6-fosfato (G-6-PO₄) y difosfato de adenosina (ADP). Una segunda enzima, la *glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PD)*, cataliza la oxidación de glucosa-6-fosfato por el dinucleótido de nicotinamida-adenina-fosfatada (NADP⁺) para formar el compuesto reducido NADPH. El aumento de la absorción del NADPH se mide a 340 nm, el cual es directamente proporcional a la concentración de glucosa en la muestra.

Reacción:



Glucosa-6-fosfato

6-fosfogluconato

Figura 3. Reacción de determinación de glucosa por el sistema glucosa hexocinasa. Tomado de: Newsholme y Leech, 1987.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	19 / 143

Reactivos: estuche comercial para determinación de glucosa por este método.

Material biológico: suero, plasma o cualquier líquido biológico.

Técnica

Este procedimiento también es dependiente del estuche comercial disponible, por lo que se recomienda seguir al pie de la letra el que se emplee.

Cálculos: los indicados en el manual de procedimientos de acuerdo al estuche utilizado.

Valores de referencia y factores de conversión: igual al método anterior.

Seminario: DIABETES MELLITUS

Cuestionario

1. Mencione brevemente el mecanismo por el cual la insulina introduce la glucosa a las células. Puede ayudarse de un esquema.
2. ¿En qué padecimientos se encuentran alterados (aumentados y disminuidos) los valores de glucosa?
3. Diga brevemente cual es la fisiopatogenia de la diabetes mellitus y sus complicaciones.
4. ¿Qué exámenes de laboratorio deben utilizarse para el seguimiento del paciente diabético?
5. ¿Qué es el síndrome metabólico y cómo se diagnostica?

Bibliografía

- Kumar R, Nandhini LP, Kamalanathan S, Sahoo J, Vivekanadan M. Evidence for current diagnostic criteria of diabetes mellitus. World J Diabetes 2016; 7(17): 396-405.
- Srikanthan K, Feyh A, Visweshwar H, Shapiro JI, Sodhi K. Systematic review of metabolic syndrome biomarkers: a panel for early detection, management, and risk stratification in the West Virginian population. Int J Med Sci 2016; 13:25-38. doi: 10.7150/ijms.13800.
- Pajvani UB, Accili D. The new biology of diabetes. Diabetologia 2015; 58(11): 2459-68.
- Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010. Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes. 23 de noviembre del 2010.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE QUÍMICA CLÍNICA



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	20 / 143

- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 2008; 31(Suppl 1): S55-S60.
- American Diabetes Association, European Association for the Study of Diabetes, International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, and the International Diabetes Federation. Consensus statement on the worldwide standardization of the Hemoglobin A1c measurement. Diabetes Care 2007; 30(9): 2399-400.
- Task Force on Diabetes and Cardiovascular Diseases of European Society of Cardiology (ESC) and European Association for the study of Diabetes (EASD). Guidelines of diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases: full text. Eur Heart J 2007. doi:10.1043/eurheartj/eh1260.
- Lennie TA. The metabolic syndrome. Circulation 2006; 114; 528-9.
- Garber IL, Aguilar-Salinas CA, Gómez-Pérez FJ, Reza-Albarrán A, Hernández-Jiménez S, Vázquez-Chávez C, Rull JA. Síndrome metabólico. Posición de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología sobre la definición, fisiopatología y diagnóstico. Características del síndrome metabólico en México. Rev Endocrinol Nutr 2004; 12: 109-22.
- Guzmán-Juárez N, Madrigal-Bujaidar E. Revisión de las características clínicas, metabólicas y genéticas de la diabetes mellitus. Bioquímica 2003; 28(2): 14-23.
- Curiel-Valdés JJ, Ruiz-Velazco, Aranzolo G. Consideraciones sobre las pruebas de glucosa en sangre y su importancia: cifras actuales para el diagnóstico de diabetes mellitus e instrucciones previas a las pruebas. Aterosclerosis Rev Mex 2001; 4: 19-22.
- Islas-Andrade SA, Revilla-Monsalve C, García-Alcalá H. Diabetes mellitus. Enfoques fisiopatológicos modernos para una epidemia mundial. Med Int Mex 2001; 17: 163-8.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	21 / 143

3. PROTEÍNAS SÉRICAS

Objetivos

- Realizar las determinaciones de proteínas totales y de la fracción de albúmina por métodos colorimétricos.
- Calcular e interpretar los componentes no medidos de las fracciones proteicas.
- Establecer su importancia como elementos de diagnóstico.

Introducción

Las proteínas, en general, participan prácticamente en todos los procesos del ser vivo: transporte, catálisis enzimática, control homeostático, regulación hormonal, coagulación sanguínea, inmunidad, crecimiento, herencia, etc.

Del total de proteínas en el organismo, desde el punto de vista clínico las más importantes son las llamadas *proteínas séricas*. A pesar de encontrarse en el mismo espacio, las diversas proteínas del plasma no tienen su origen en la misma fuente. El hígado es el órgano principal para la síntesis de albúmina, además de las α y β globulinas, y quizá de algunas γ globulinas no inmunes, entre éstas figuran las proteínas de la coagulación y transporte en la sangre. Las células del sistema fagocítico mononuclear (bazo, médula ósea, nodos linfáticos) son la fuente de anticuerpos, γ globulinas inmunes y quizá de algunas β globulinas.

Los valores de proteínas séricas tienen una variación diurna de 0.5 g/dL, y son el reflejo de los pequeños cambios entre el líquido vascular y el no vascular en el curso de la actividad diurna, lo que indica que la medición debe hacerse durante la mañana, cuando los niveles son más constantes.

La concentración de proteínas en una solución se expresa universalmente en forma de peso de las mismas por unidad de volumen obtenida, principalmente por métodos gravimétricos. Los métodos gravimétricos son un tanto complicados, por lo que no son aplicables a la rutina. De aquí que los métodos de determinación empleados en el laboratorio sean estandarizados por los métodos gravimétricos.

Debido a la complejidad de algunas proteínas, se ha propuesto establecer como base la determinación del contenido en polipéptidos. Las proteínas séricas pueden cuantificarse en total o fraccionadas. El número de fracciones encontradas depende del método de análisis empleado y el propósito del mismo.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	22 / 143

3.1 PROTEÍNAS TOTALES MÉTODO DE BIURET

Las proteínas totales son comúnmente determinadas por alguna modificación de la reacción de Biuret, en la cual las proteínas dan un color violeta con una solución de tartrato cúprico alcalino.

El máximo de absorción del complejo proteína-Biuret, en la zona de la luz visible, se produce a 545 nm cuando se hace frente a un blanco de agua. Este complejo también tiene otro pico de absorción máxima a 300 nm, teniendo una sensibilidad cuatro veces mayor, pero la interferencia por turbidez en la solución es también potenciada.

La reacción se efectúa directamente con suero diluido o no diluido. En el suero están presentes algunos péptidos, pero no contribuyen al aumento de color en el Biuret. Los iones amonio (NH_4^+) interfieren por amortiguar el pH a un nivel bajo, pero la concentración de iones amonio en suero es tan baja que no llega a interferir en la medición.

Con la mayoría de los métodos basados en la reacción de Biuret se pueden determinar proteínas en el intervalo de 0.5 a 1.5 ng de proteína por alícuota que se mide. Los resultados que se obtienen por este método son reproducibles y coinciden con los del método Kjeldahl, considerado como el método de referencia.

Fundamento

Las proteínas y los péptidos, al contrario de otros compuestos nitrogenados como urea, creatinina, ácido úrico, etc., forman en solución alcalina, un complejo color violeta con iones de cobre. La reacción se lleva a cabo con el enlace peptídico y para que se efectúe requiere como mínimo dos enlaces peptídicos.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	23 / 143

Reacción:

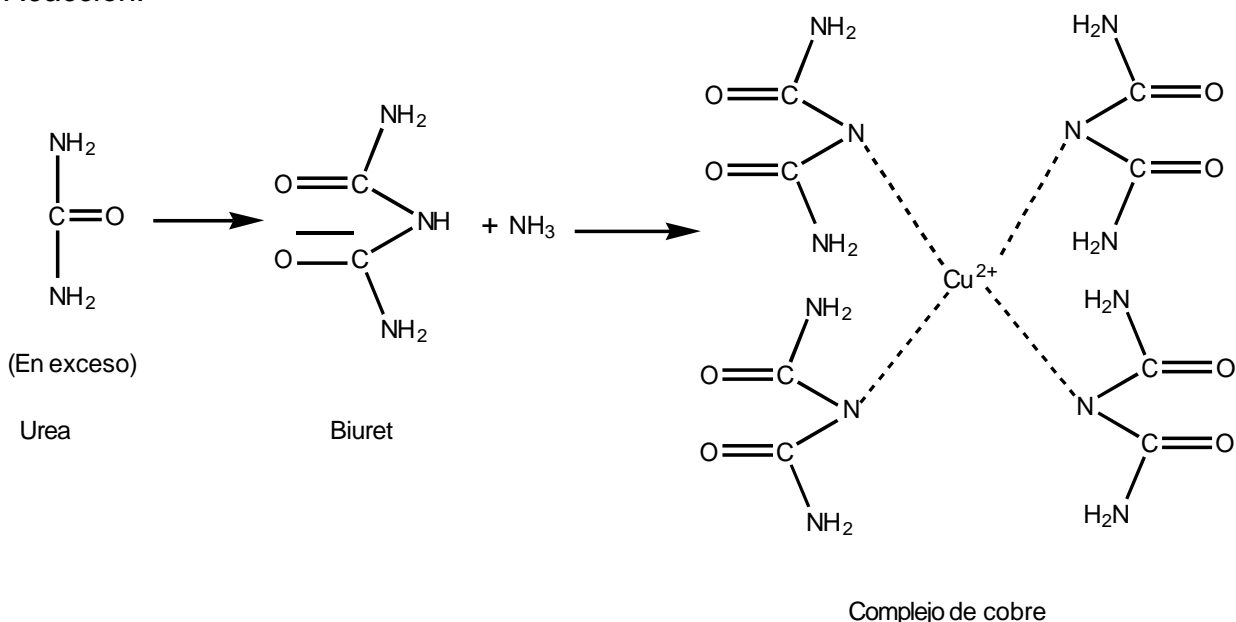


Figura 4. Reacción de proteínas totales en el método de Biuret, el ejemplo es con urea. Tomado de: Henry, 1980.

Reactivos: estuche comercial para determinación de proteínas totales por el método de Biuret.

Material biológico: suero, plasma o cualquier líquido biológico.

Técnica

Es dependiente del estuche comercial disponible. Debe seguirse al pie de la letra las instrucciones.

Cálculos: los indicados en el instructivo del estuche utilizado.

Factor de conversión: no se pueden expresar en moles debido a la variedad de estructuras químicas, por lo que se reportan en g/L, de ahí que el factor de conversión es 10.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	24 / 143

Valores de referencia

Muestra		Tradicional	SI
Suero			
Mujeres*	0 – 3 años	6.1 – 8.2 g/dL	61 – 82 g/L
	> 4 años	6.2 – 8.2 g/dL	62 – 82 g/L
Hombres*	0 – 3 años	5.9 – 7.5 g/dL	59 – 75 g/L
	> 4 años	6.5 – 8.2 g/dL	65 – 82 g/L
LCR (lumbar)	Adultos y niños	15 – 45 mg/dL	0.15 – 0.45 g/L
	Recién nacidos	hasta 90 mg/dL	hasta 0.9 g/L

LCR: líquido cefalorraquídeo. *Para población mexicana. Tomado de: Olay-Fuentes G, 2013.

3.2 FRACCIONAMIENTO DE PROTEÍNAS

Todos los líquidos biológicos contienen una mezcla heterogénea de proteínas, muchas de las cuales se encuentran en trazas, por ejemplo, las enzimas y las hormonas. La separación química o física de los componentes proteicos de tales mezclas se denomina "fraccionamiento".

De todas las proteínas séricas, dos son los grupos más importantes desde el punto de vista diagnóstico, la albúmina y las globulinas, pudiéndose obtener la razón albúmina/globulinas como un simple fraccionamiento, ya que en algunos estados patológicos disminuye la albúmina y aumentan las globulinas modificando el valor de la razón.

Si se desea obtener un mejor fraccionamiento proteico, el método principal es la electroforesis; pero hay algunos métodos químicos que dan buena resolución para la cuantificación de albúmina y demás proteínas componentes de las fracciones de globulinas.

Hay dos métodos químicos de fraccionamiento proteico que son simples y cómodos para realizarse en trabajos analíticos rutinarios:

- Fraccionamiento salino, en el que se efectúa la separación de albúmina y globulinas por grupo, que da información clínica muy útil.
- Cuantificación con colorantes, donde reacciona la albúmina y por diferencia se obtienen las globulinas.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	25 / 143

3.2.1 Albúmina

MÉTODO DE UNIÓN A COLORANTES

Las técnicas para la determinación de albúmina por conjugación con colorantes aprovechan la propiedad de algunos de éstos de formar un complejo colorante-proteína que muestra propiedades ópticas diferentes a las que posee el colorante libre. Los radicales a los que se une el colorante son capaces de unirse también reversiblemente a otras sustancias como: bilirrubinas, ácidos grasos libres y algunos fármacos.

Fundamento

Cuando la albúmina es adicionada a una solución amortiguada de un colorante indicador, se une por puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals al colorante, produciendo un cambio en el color de la solución.

En ciertos rangos, la cantidad del cambio de color es proporcional a la cantidad de albúmina presente, las demás seroproteínas no reaccionan. Este método emplea verde de bromocresol, a pH 4.0, que presenta una menor interferencia con bilirrubina que otros colorantes.

Reactivos: estuche comercial para determinar albúmina por este método.

Material biológico: suero, plasma o cualquier líquido biológico.

Técnica

Dependiente del estuche comercial disponible. Debe seguirse al pie de la letra las instrucciones.

Cálculos: para la concentración de albúmina, seguir los indicados en el instructivo del estuche utilizado.

Fracción globulínica:

$$\frac{A_{490}(g/dl) - A_{590}(g/dl)}{A_{590}(g/dl)} = P$$

Factores de conversión: $R_{60} = \frac{A_{490}(g/dl)}{A_{590}(g/dl)} \times 0.151$

$$g/dl = \frac{A_{490}}{A_{590}} \times 6.65$$



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	26 / 143

Valores de referencia

	Tradicional	SI
Albúmina		
Suero o plasma	3.5 – 5.1 g/dL	0.53 – 0.77 mmol/L
Globulinas totales		
Suero	2.3 – 3.5 mg/dL	23 – 35 g/L
Razón albúmina/globulinas	1.1 – 1.8	1.1 – 1.8

Seminario: MIELOMA MÚLTIPLE

Cuestionario

1. ¿En qué padecimientos se encuentran alterados los valores de proteínas y sus fracciones (aumentados y disminuidos)?
2. ¿Qué es una gamapatía monoclonal?
3. ¿Cuáles son las características de la proteína de Bence-Jones?
4. ¿Cómo se detecta la presencia de la proteína de Bence-Jones en el laboratorio?
5. ¿Qué pruebas de laboratorio complementan el diagnóstico de mieloma múltiple?

Bibliografía

- Dhakal B, Girnius S, Hari P. Recent advances in understanding multiple myeloma. F1000Res 2016; 5(F1000 Faculty Rev): 2053. doi: 10.12688/f1000research.8777.1
- Hong J, Lee JH. Recent advances in multiple myeloma: a Korean perspective. Korean J Intern Med 2016; 31: 820-34.
- Olay-Fuentes G, Díaz-Piedra P, Hernández-Gómez R, Cervantes-Villagrana RD, Presno-Bernal JM, Alcántara-Gómez LE. Determinación de intervalos de referencia para química clínica en población mexicana. Rev Latinoam Patol Clin 2013; 60(1): 43-51.
- Castagnino JM. Análisis de las proteínas humanas y de sus aportes al laboratorio clínico [Ed]. Acta Bioquím Clín Latinoam 2010; 44(1): 1-2.
- Davids MS, Murali MR, Kuter DJ. Serum free light chain analysis. Am J Hematol 2010; 85: 787-90.
- Kyle RA, Rajkumar SV. Multiple myeloma. N Engl J Med 2004; 351: 1860-73.
- Graziani MS, Merlini G. Measurement of free light chains in urine [Letter] Clin Chem 2001; 47: 2069.
- Attalman M, Levinson SS. Understanding and identifying monoclonal gammopathies. Clin Chem 2000; 46(8B): 1230-8.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	27 / 143

4. PERFIL DE LÍPIDOS

Objetivos

- Determinar los componentes del perfil de lípidos: colesterol, triglicéridos y HDL-colesterol.
- Reconocer y calcular el LDL-colesterol y el colesterol-no-HDL.
- Interpretar los resultados obtenidos del perfil de lípidos en el contexto clínico.

Introducción

Los lípidos son derivados de los ácidos grasos que con otros compuestos adquieren propiedades similares de solubilidad: insolubles en agua y solubles en solventes no polares. Anteriormente eran denominados lípidos sanguíneos, pero actualmente son considerados como lípidos séricos, pues el eritrocito contiene lípidos en su membrana que no están considerados dentro del metabolismo de lípidos, por lo que no se toman en cuenta.

La química clínica se ocupa fundamentalmente de los lípidos del suero o del plasma y de las heces. Los componentes de mayor interés son los triglicéridos, los fosfolípidos, el colesterol y sus ésteres, los ácidos grasos libres y las lipoproteínas. En la sangre, como mínimo, el 95% de los lípidos están en combinación con proteínas constituyendo las lipoproteínas. El manejo y análisis cuantitativo de lípidos requiere escrupulosa atención a los pormenores y plantea algunos problemas que no se presentan en análisis de otro tipo de moléculas. Como en general los lípidos son insolubles en agua, se emplean comúnmente en su manejo muchos disolventes volátiles e inflamables y ello representa un riesgo constante.

Los lípidos que se encuentran en mayor concentración son el colesterol y sus ésteres y los fosfolípidos, los cuales están presentes en cantidades aproximadas de 150-300 mg/dL en individuos normales (sanos). La cantidad de triglicéridos es más o menos de 50-150 mg/dL y los demás tienen concentraciones mucho más pequeñas. Actualmente la medición de los ésteres de colesterol no tiene ninguna importancia clínica, de tal forma que se realiza la cuantificación de colesterol total.

Al ser las lipoproteínas las transportadoras de los lípidos en el plasma, ahora forman parte del diagnóstico, sin ser necesario cuantificarlas todas, sino únicamente la HDL-colesterol y la LDL-colesterol.

Por otro lado, se denomina perfil en química clínica, al grupo de determinaciones que en conjunto nos dan apoyo para un diagnóstico; en este sentido, debido a que la determinación de lípidos totales no brinda realmente una información diagnóstica, fue eliminada del perfil por ser considerada actualmente una prueba obsoleta, de ahí que el perfil de lípidos está conformado por colesterol total, triglicéridos y lipoproteínas.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	28 / 143

4.1 COLESTEROL TOTAL

MÉTODO ENZIMÁTICO. CHOD-PAP (TRINDER)

El colesterol en el suero o plasma se encuentra libre o esterificado con ácidos grasos, lo mismo que en el eritrocito, sólo que, en diferente proporción, 1:3 en el primero y 4:1 en el segundo. Las cifras de colesterol sérico son alteradas por algunos factores que no afectan la concentración de este compuesto en el interior del eritrocito, siendo por ello preferible efectuar la determinación de colesterol total en suero o plasma en lugar de hacerlo en sangre total.

En la actualidad, prevalecen los métodos enzimáticos sobre los químicos para las diferentes determinaciones, y en el caso de colesterol, el método rutinario enzimático es el más específico para su determinación y emplea dos enzimas: colesterol esterasa y colesterol oxidasa. Este método se puede utilizar para la determinación de colesterol libre, no añadiendo la esterasa, aunque no es común hacerlo. Si es que se lleva a cabo el análisis del colesterol libre debe efectuarse el mismo día de la extracción de la sangre o congelarse el suero. El colesterol total es estable en las muestras durante 7 días a temperatura entre 2° – 8°C.

Fundamento

El colesterol se determina en el suero después de ser hidrolizado para liberarlo de sus ésteres, y oxidado enzimáticamente. En la oxidación se produce H₂O₂ que, en presencia de peroxidasa, por reacción con 4-amino-fenazona (PAP) y fenol se transforma en un colorante de quinonimina que puede ser valorado por fotometría, por lo que se ha automatizado.

Reacción:

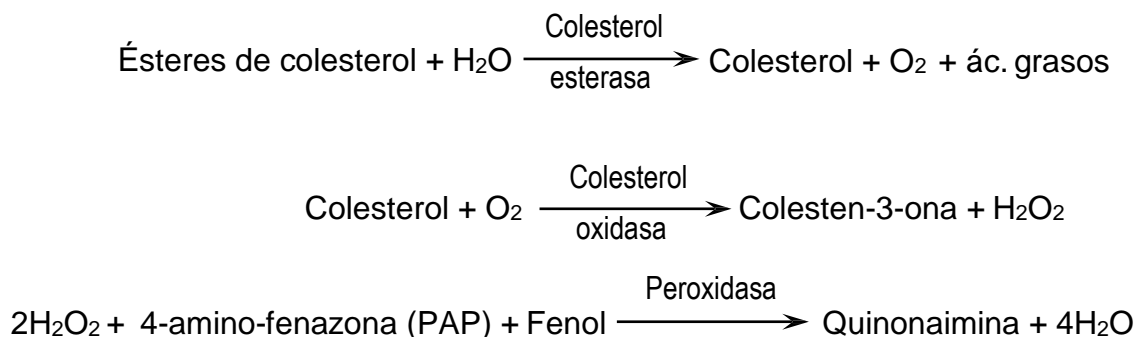


Figura 5. Reacciones acopladas para determinar colesterol enzimáticamente.
Tomado de: Pesce y Kaplan, 1990.

Reactivos: estuche comercial para la determinación de colesterol enzimático CHOD-PAP (Trinder).



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	29 / 143

Material biológico: suero o plasma.

Técnica

Es dependiente del estuche comercial disponible. Deben seguirse las instrucciones como lo indica la casa comercial.

Cálculos: los indicados en el instructivo del estuche usado.

Factores de conversión: $\frac{\text{mg/dL}}{\text{mmol/L}} = \frac{\text{mg}}{\text{mmol}} \times 0.026$

$$\frac{\text{mmol}}{\text{L}} = \frac{\text{mg}}{\text{dL}} \times 38.67$$

Interpretación: en el caso en particular del perfil de lípidos, los valores de referencia no son de utilidad, deben considerarse de importancia los valores de corte clínico, de acuerdo a la NOM-037-SSA2-2012. La interpretación se hace de todos los componentes del perfil, por lo que se presentan al final de esta sección.

4.2 TRIGLICÉRIDOS

MÉTODO ENZIMÁTICO GPO-PAP (TRINDER)

Los triglicéridos se mantienen en solución unidos a proteínas, principalmente con las β (LDL) y las pre- β (VLDL) lipoproteínas. Se encuentran también en suero, aunque en pequeñas cantidades, mono y diglicéridos.

Los triglicéridos del plasma son más altos que los del suero del mismo sujeto debido a que, durante la formación del coágulo, una cierta cantidad de los mismos quedan atrapados en las mallas de fibrina, a pesar de todo, casi todos los estudios sobre triglicéridos publicados en la literatura se han efectuado sobre suero.

Las reacciones para la cuantificación de triglicéridos se realizan con el glicerol, por lo que es necesario hacer una hidrólisis de los ácidos grasos, la cual actualmente se hace enzimáticamente. El glicerol es cuantificado por una serie de reacciones enzimáticas acopladas para medir, finalmente, la coenzima NAD^+ oxidada o reducida, dependiendo del sentido de las reacciones.

Hoy en día, se ha difundido un método Trinder, en donde el glicerol es oxidado para producir H_2O_2 el cuál es medido por reacción de oxidación de 4-aminofenazona, el cual ha sido automatizado.

Fundamento

Los triglicéridos en el suero son hidrolizados por una lipasa (LPS), liberando el glicerol. Posteriormente, éste es fosforilado a glicerol-3 fosfato por medio de la enzima glicerol cinasa (GK). El glicerol-3-fosfato es a su vez sustrato de la glicerol



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	30 / 143

fosfato oxidasa (GPO) que produce H₂O₂ en la reacción. El H₂O₂ oxida a la 4-aminofenazona formando una quinonimina que se puede leer fotométricamente.

Reacción:

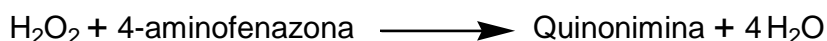
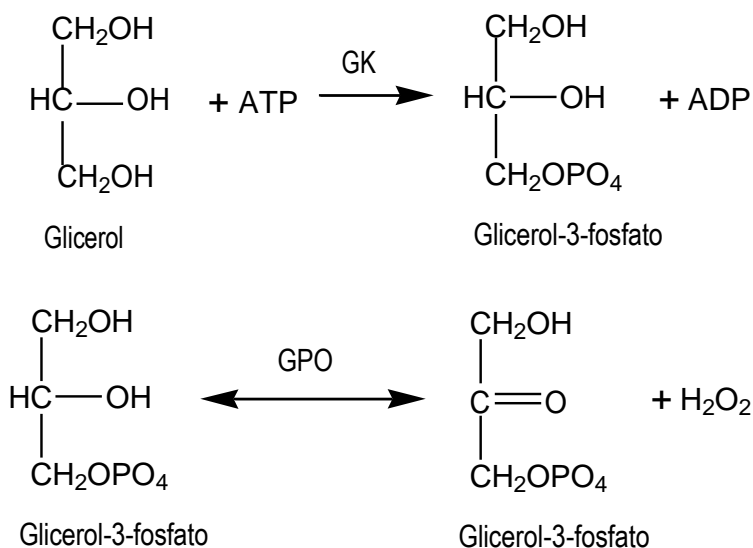


Figura 6. Reacciones acopladas para la determinación de triglicéridos enzimáticamente. Modificado de: Anderson, 1995. GK: glicerol cinasa, GPO: glicerol fosfato oxidasa.

Reactivos: estuche comercial para determinación de triglicéridos por método Trinder.

Material biológico: suero o plasma.

Técnica

Seguir cuidadosamente el instructivo del estuche comercial.

Cálculos: los indicados en el instructivo del estuche utilizado.

Factores de conversión: $\frac{\text{mg}}{\text{L}} = \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 0.011$

$\frac{\text{mg}}{\text{L}} = \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 88.54$



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	31 / 143

4.3 HDL-COLESTEROL, LDL-COLESTEROL Y COLESTEROL-NO-HDL

Las lipoproteínas son partículas esféricas que están constituidas por una porción interna hidrofóbica rodeada de una capa externa hidrofílica. Se reconocen cuatro lipoproteínas que se nombran de acuerdo a su densidad y movilidad electroforética: quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) o pre- β , lipoproteínas de baja densidad (LDL) o β , y lipoproteínas de alta densidad (HDL) o α . Desde el punto de vista clínico las lipoproteínas de importancia son la LDL y la HDL.

Inicialmente, las lipoproteínas en el laboratorio clínico eran identificadas y cuantificadas por electroforesis. Con el estudio de la composición de ellas, se pudo observar que tanto la LDL como la HDL tenían como principal componente el colesterol, sólo que en la última éste se encuentra esterificado.

Al realizar investigaciones sobre el papel patogénico de ambas lipoproteínas, se le atribuyó a la LDL un alto poder aterogénico, mientras que a la HDL un papel protector. Con este giro en el estudio de las lipoproteínas, fue que se consideró como de mayor importancia el cuantificarlas.

Como ambas contienen colesterol en sus moléculas, se desarrollaron procedimientos denominados HDL-colesterol y LDL-colesterol, ya que se cuantifica el colesterol. Se utiliza la propiedad que tienen la LDL, VLDL y quilomicrones de formar complejos con iones polifuncionales parecidos a la heparina y al sulfato de dextrán que precipitan en presencia de ciertos cationes como Mg^{2+} y Mn^{2+} , quedando soluble la HDL que puede ser separada rápidamente.

Recientemente se indica que el colesterol no unido a HDL es potencialmente aterogénico e indica riesgo de muerte por enfermedad cardiovascular, por lo que debe aumentarse este cálculo al perfil.

Fundamento

Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y de muy baja densidad (VLDL) se precipitan con ácido fosfotúngstico en presencia de iones magnesio y pueden ser removidas por centrifugación. En el sobrenadante claro quedan las lipoproteínas de alta densidad (HDL). El colesterol-HDL puede valorarse utilizando el método CHOD-PAP, ningún otro pues hay interferencia con la reacción.

Reactivos:

- Reactivo precipitante para HDL
- Estuche comercial para la determinación de colesterol por el método CHOD-PAP.

Material biológico: suero o plasma



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	32 / 143

Técnica

Realizar la determinación del colesterol como se indica en el inserto de la casa comercial.

Cálculos: los indicados por la casa comercial para cuantificación de colesterol.

Para obtener la concentración de LDL, se cuantifica el colesterol en el sobrenadante y el colesterol total en la muestra y se aplica la fórmula:

$$LDL(mg/dL) = Colesterol(mg/dl) - \left(\left(\frac{Triglicéridos(mg/dL)}{5} \right) + HDL(mg/dL) \right)$$

Esta fórmula es válida para las muestras de suero/plasma con triglicéridos < 400 mg/dL, ya que con valores superiores no es factible la correcta separación de las lipoproteínas.

El colesterol no HDL (C-no-HDL) se calcula a partir del colesterol total y HDL-colesterol con la fórmula:

$$C\text{-no-HDL}(mg/dL) = Colesterol\ total(mg/dL) - HDL(mg/dL)$$

También es importante calcular los índices considerados para la interpretación de riesgo cardiovascular:

$$\frac{C\text{-no-HDL}(mg/dL)}{HDL(mg/dL)} \quad \text{y} \quad \frac{LDL(mg/dL)}{HDL(mg/dL)}$$

Factores de conversión: los mismos que para colesterol.

Valores de corte clínico

Para el perfil de lípidos, de acuerdo a la NOM-037-SSA2-2012, se considera dislipidemia si:

Lípido	Tradicional	SI
Colesterol total	≥ 200 mg/dL	≥ 5.2 mmol/L
Triglicéridos	≥ 150 mg/dL	≥ 1.65 mmol/L
HDL-colesterol	< 40 mg/dL	< 0.91 mmol/L
LDL-colesterol	> 130 mg/dL	> 3.38 mmol/L
Colesterol-no-HDL	> 160 mg/dL	> 4.16 mmol/L



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	33 / 143

	Riesgo	CoI/HDL	LDL/HDL
Mujer	Promedio	4.4	3.2
	2X promedio	6.4	3.7
	3X promedio	7.5	5.0
Hombre	Promedio	5.1	3.5
	2X promedio	6.8	4.2
	3X promedio	7.8	5.2

Seminario: ATEROESCLEROSIS

Cuestionario

1. ¿Cuál es la composición química de cada una de las lipoproteínas y cuál es su función principal?
2. Escriba la clasificación de las dislipidemias según la NOM-037-SSA2-2012.
3. De acuerdo a la NOM-037-SSA-2012, ¿qué se debe incluir para un buen diagnóstico de dislipidemia?
4. Explique la fisiopatología de la aterosclerosis.
5. ¿Qué papel juegan las lipoproteínas en el proceso aterogénico?, explique.

Bibliografía

- Hendrani AD, Adesiyun T, Quispe R, Jones SR, et al. Dyslipidemia management in primary prevention of cardiovascular disease: Current guidelines and strategies. *World J Cardiol* 2016; 8(2): 201-10.
- Ossoli A, Pavanello C, Calabresi L. High-density lipoprotein, lecithin: cholesterol acyltransferase, and atherosclerosis. *Endocrinol Metab* 2016; 31: 223-9. <http://dx.doi.org/10.3803/EnM.2016.31.2.223>.
- Spence JD. Recent advances in pathogenesis, assessment, and treatment of atherosclerosis. *F1000Res*. 2016; 5. pii: F1000 Faculty Rev-1880. doi: 10.12688/f1000research.8459.1
- Gupta A, Smith DA. The 2013 American College of Cardiology/American Heart Association guidelines on treating blood cholesterol and assessing cardiovascular risk. A busy practitioner's guide. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2014; 43: 869-92.
- Santos-Gallego CG, Badimon JJ, Rosenson RS. Beginning to understand high-density lipoproteins. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2014; 43: 913-47.
- Storino-Farina MA, Contreras-Zambrano MA. El papel de los triglicéridos en la aterosclerosis y su relación con la resistencia a la insulina: una ruta desconocida. *Rev Venez Endocrinol Metab* 2013; 11(3): 123-7.
- Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana NOM-037-SSA2-2012. Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias. 25 de junio del 2012.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE QUÍMICA CLÍNICA



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	34 / 143

- Benozzi S, Coniglio RI. Aterosclerosis: biomarcadores plasmáticos emergentes. Acta Bioquím Clín Latinoam 2010; 44(3): 317-28.
- Warnick GR, Nakajima K. Fasting versus nonfasting triglycerides: implications for laboratory measurements. Clin Chem 2008; 54(1): 14-6.
- Chilton RJ. Pathophysiology of coronary heart disease: a brief review. J Am Osteopath Assoc 2004; 104(9 Suppl 7): S5-S8.
- Pubillones-Fernández M. Aterosclerosis: ¿cómo unificar criterios? Aterosclerosis Rev Mex 2001; 4: 28-30.
- Navarro-Robles J. Problemática de la aterosclerosis en México [Editorial]. Rev Mex Cardiol 1999; 10: 59-63.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	35 / 143

5. IONES INORGÁNICOS SÉRICOS (ELECTROLITOS)

Objetivos

- Reconocer los diferentes métodos para la cuantificación de los principales iones inorgánicos séricos: sodio, potasio, cloruros, calcio y fósforo.
- Aplicar los métodos de determinación de cloruros, calcio y fósforo.
- Interpretar los resultados en el contexto clínico.

Introducción

Los electrolitos se clasifican como aniones o cationes según su carga eléctrica y su migración en un campo eléctrico, hacia el ánodo o el cátodo.

Aunque los aminoácidos y proteínas en solución también llevan carga eléctrica, en Química Clínica se clasifican de ordinario a parte de los electrolitos.

Los principales electrolitos (sodio, potasio, cloruros, fosfatos, calcio y magnesio) se encuentran generalmente como iones libres, mientras que los elementos trazas ocurren de manera primaria en alguna combinación especial con proteína y por eso se clasifican diferente, además de que los electrolitos están en el organismo en mayor concentración.

Los electrolitos desempeñan múltiples funciones en el cuerpo humano. Casi no existe ningún proceso metabólico que no dependa o no sea afectado por ellos.

La determinación de electrolitos es una de las funciones importantes del laboratorio clínico. En los últimos años se ha podido disponer de una serie de instrumentos que facilitan la determinación analítica. Entre las herramientas que se emplean actualmente se encuentran diversos micrométodos y macrométodos, basados en espectrofotometría, espectrografía de emisión, espectrofotometría de flama, análisis de activación neutrónica, espectroscopía de absorción atómica, análisis coulombimétrico y electrodo ion selectivo (EIS), considerándose el de referencia la absorción atómica, aunque es poco práctico para la rutina.

El método rutinario de elección es el electrodo ion selectivo, por su facilidad para incluirse en los autoanalizadores y la sencillez de los procedimientos.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	36 / 143

5.1 SODIO Y POTASIO

El sodio y el potasio son generalmente determinados electrodo ion selectivo (EIS). Los detalles analíticos varían con el aparato que se utilice, por lo que se deben leer cuidadosamente las instrucciones del mismo antes de realizar la determinación.

Los métodos con electrodos para iones usan una membrana de vidrio que permite el intercambio iónico de sodio y una membrana transportadora neutra de valinomicina para la medición de potasio. Los electrodos típicos para sodio tienen una selectividad diez veces mayor para Na^+ que para K^+ y no son afectados por pH superiores a 1.

La relación Na^+/K^+ en suero es aproximadamente 30. El potencial de cada electrodo se mide con un voltaje fijo y estable, determinado por el electrodo de referencia. Cada electrodo genera un voltaje que varía con la concentración de iones a la cual responde. La relación entre el voltaje generado y la concentración del ion percibido es logarítmica y se expresa a través de la ecuación de Nerst.

En este último sistema existen dos tipos generales de mediciones: directas, que utilizan la muestra sin diluir, o indirectas, que miden la actividad iónica en una muestra diluida (1:100, generalmente).

En la actualidad, la determinación de estos iones por EIS ha adquirido importancia por la facilidad de la automatización.

Técnica

Por carecer del equipo para hacer la medición, esta actividad será únicamente de seminario.

Valores de referencia:

Suero o plasma	Tradicional	SI
Sodio	136 – 145 mEq/L	136 – 145 mmol/L
Potasio*	3.7 – 5.2 mEq/L	3.7 – 5.2 mmol/L

*Para población mexicana. Tomado de: Olay-Fuentes G, 2013.

SEMINARIO: ABSORCIÓN ATÓMICA Y ELECTRODO ION SELECTIVO

Cuestionario

1. ¿Qué es un estándar interno en absorción atómica y con qué elementos químicos se debe utilizar para su cuantificación?
2. ¿Cuál es el fundamento del electrodo ion selectivo?
3. Realice un esquema de un EIS para sodio.
4. ¿Cuáles son las funciones fisiológicas del sodio y el potasio?



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	37 / 143

5. ¿En qué trastornos clínicos aumentan y disminuyen los niveles de sodio y potasio?

Bibliografía

- Fijorek K, Püsküllüoğlu M, Tomaszewska D, Tomaszewski R, Glinka A, Polak S. Serum potassium, sodium and calcium levels in healthy individuals – literature review and data analysis. *Folia Med Cracov* 2014; 54(1): 53-70.
- Olay-Fuentes G, Díaz-Piedra P, Hernández-Gómez R, Cervantes-Villagrana RD, Presno-Bernal JM, Alcántara-Gómez LE. Determinación de intervalos de referencia para química clínica en población mexicana. *Rev Latinoam Patol Clin* 2013; 60(1): 43-51.
- Sam R, Feizi I. Understanding hyponatremia. *Am J Nephrol* 2012; 36: 97-104.
- Kazory A. Hyponatremia in heart failure: revisiting pathophysiology and therapeutic strategies. *Clin. Cardiol* 2010; 33(6): 322-9.
- Peruzzo M, Milani GP, Garzoni L, Longoni L, et al. Body fluids and salt metabolism - Part II. *Ital J Pediatr* 2010; 36: 78.
- <http://www.ijponline.net/content/36/1/78>
- Tejada-Cifuentes F. Alteraciones del equilibrio del potasio: Hipopotasemia. *Rev Clín Med Fam* 2008; 2(3): 129-33.
- Hollander-Rodriguez JC, Calvert JF Jr. Hyperkalemia. *Am Fam Physician* 2006; 73: 283-90.
- Hartland AJ, Neary RH. Serum potassium is unreliable as an estimate of in vivo plasma potassium. *Clin Chem* 1999; 45: 1091-2.
- Rodríguez-García J, Sogo T, Otero S, Paz JM. Transferability of results obtained for sodium, potassium and chloride ions with different analyzers. *Clin Chim Acta* 1998; 275: 151-62.
- Guanaratna P, Koch W, Paule R, Cormier A, D'Órazio P, Greemberg N, et al. Frozen human serum reference material for standardization of sodium and potassium measurement in serum or plasma by ion-selective electrode analyses. *Clin Chem* 1992; 38: 1459-65.
- Ng R, Saprks K, Statland B. Colorimetric determination of potassium in plasma and serum by reflectance photometry with a dry-chemistry reagent. *Clin Chem* 1992; 38: 1371-2.
- Oesch U, Ammann D, Simon W. Ion-selective membrane electrodes for clinical use. *Clin Chem* 1986; 32(8): 1448-59.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	38 / 143

5.2 CLORUROS

VALORACIÓN MERCUROMÉTRICA

El ion cloruro es el principal anión extracelular, con 103 mEq/L de concentración en el suero, siendo el total de los aniones de 154 mEq/L; intervienen de un modo importante en el mantenimiento de la hidratación y la presión osmótica aproximada y del balance anión-catión normal en el mismo compartimento.

La mayoría de las técnicas habitualmente utilizadas para la determinación de cloro recurren a una conjugación previa de este elemento con plata o mercurio para formar cloruro de plata o cloruro de mercurio no disociados.

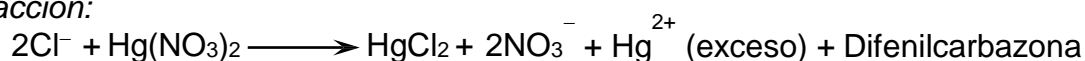
Se ha determinado también mediante el análisis del desplazamiento del ion cromato de su forma inicial de cromato de plata o cromato potásico, y con ion tioscianato.

El principal problema de estos métodos, es que son básicamente gravimétricos, por lo que el error humano puede ser muy grande.

Fundamento

Se titulan los iones cloruro (Cl^-) con una solución patrón de mercurio II (Hg^{2+}), lo que da lugar a la formación de HgCl_2 no disociado pero soluble. El punto final de la titulación viene detectado por la aparición de un color violeta que se produce cuando el exceso de Hg^{2+} forma un complejo con el indicador difenilcarbazona.

Reacción:



Complejo violeta

Figura 7. Reacción de determinación de cloruros por el método mercuriométrico.
Tomado de: Pesce y Kaplan, 1990.

Reactivos: estuche comercial para la determinación de cloruros por el método mercuriométrico.

Material biológico: suero, plasma o líquido cefalorraquídeo.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	39 / 143

Técnica

El procedimiento depende del estuche comercial disponible. Debe seguirse al pie de la letra las instrucciones del fabricante.

**NOTA:* El material de vidrio debe estar bien limpio y enjuagado con agua preferentemente bidestilada.

Cálculos: los indicados en el instructivo del estuche empleado.

Factores de conversión: $\text{mg/dL} = \text{g/L} \times 0.282$

$\text{g/L} = \text{mg/dL} \times 3.545$

$\text{mg/dL} = \text{g/L} \times 28.21$

Valores de referencia

Muestra	Tradicional	SI
Suero	334 – 395 mg/dL	94 – 111 mmol/L
	102 – 112 mEq/L	102 – 112 mmol/L*
Orina	6 – 9 g/24 h	170 – 250 mmol/24 h
LCR	410 – 470 mg/dL	115 – 132 mmol/L

LCR: líquido cefalorraquídeo. *Para población mexicana. Tomado de: Olay-Fuentes G, 2013.

Seminario: DESHIDRATACIÓN

Cuestionario

1. ¿Qué otros métodos existen para la determinación de cloruros? Explique el fundamento de dos de ellos.
2. Esquematice el desplazamiento de cloruros en el eritrocito para el mantenimiento del equilibrio ácido-base.
3. ¿Cuáles son los síntomas clínicos y hallazgos de laboratorio en una deshidratación?
4. ¿En qué padecimientos se encuentran alterados (aumentados y disminuidos) los cloruros plasmáticos y en LCR?
5. Defina qué es una deshidratación isotónica, hipotónica e hipertónica.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	40 / 143

Bibliografía

- Díaz Mora JJ, Echezuria L, Petit de Molero N, Cardozo MA, Arias A, Rísquez A. Diarrea aguda: epidemiología, concepto, clasificación, clínica, diagnóstico, vacuna contra rotavirus. Arch Venez Pueric Pediatr 2014; 77(1): 29-40.
- Olay-Fuentes G, Díaz-Piedra P, Hernández-Gómez R, Cervantes-Villagrana RD, Presno-Bernal JM, Alcántara-Gómez LE. Determinación de intervalos de referencia para química clínica en población mexicana. Rev Latinoam Patol Clin 2013; 60(1): 43-51.
- Peruzzo M, Milani GP, Garzoni L, Longoni L, et al. Body fluids and salt metabolism - Part II. Ital J Pediatr 2010; 36: 78.
<http://www.ijponline.net/content/36/1/78>
- Bianchetti MG, Simonetti GD, Bettinelli A. Body fluids and salt metabolism -Part I. Ital J Pediatr 2009; 35:36 doi:10.1186/1824-7288-35-36.
- Díaz-Mora JJ, Madera M, Pérez Y, García M, León K, Torres M. Generalidades en diarrea aguda. Arch Venez Pueric Pediatr 2009; 72(4): 139-45.
- Pizarro-Torres D. Alteraciones hidroelectrolíticas y ácido-base más frecuentes en el paciente con diarrea. Bol Med Hosp Infant Mex 2005; 62: 57-68.
- Riverón-Corteguera RL, Mena-Miranda VR. Desequilibrio hidroelectrolítico y ácido-base en la diarrea. Rev Cubana Pediatr 2000; 72: 170-82.
- Riverón-Corteguera RL. Fisiopatología de la diarrea aguda. Rev Cubana Pediatr 1999; 71(2): 86-115.
- Velázquez-Jones L. Regulación del equilibrio hídrico corporal. Rev Mex Ped 1980; 47: 73-6.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	41 / 143

5.3 CALCIO Y FOSFATO

Los metabolismos de calcio y fósforo están tan íntimamente ligados que se justifica examinarlos al mismo tiempo. Se han publicado en la literatura una gran cantidad de técnicas para la cuantificación de calcio, incluyéndose entre ellas:

- Reacción con un anión, seguida de la cuantificación del anión.
- Quelación con EDTA.
- Precipitación con ácido cloránico ó ácido naftilhidroxámico, seguida de una determinación fotométrica del anión.
- Medida espectrofotométrica directa de productos de reacción coloreados formados por varios indicadores.
- Fotometría de llama.
- Absorción atómica.
- Electrodo ión selectivo.

De todas éstas, las más exactas son las tres últimas, siendo la fotometría de llama y la absorción atómica menos accesibles y más costosas por el equipo que se emplea y su mantenimiento. Las demás presentan muchos problemas a nivel técnico que deben tomarse en cuenta cuando se hace la determinación y se consideran casi equivalentes. La técnica colorimétrica de reacción con un indicador es la más utilizada debido a que tiene menos dificultades técnicas y es más fácil de estandarizar en el laboratorio, siendo muy reproducible.

El fósforo se encuentra en la sangre fundamentalmente en forma de fosfatos inorgánicos y orgánicos. El fósforo total se determina como fosfato inorgánico, después de una digestión húmeda de la sangre con ácido sulfúrico/ácido perclórico, ácido nítrico o peróxido de hidrógeno. Si en lugar de estos agentes se emplea ácido tricloroacético, se denomina fósforo ácido-soluble, que incluye los iones fosfato, inorgánicos y algunos orgánicos. Las técnicas de determinación de los iones fosfato se basan en que, en condiciones adecuadas, los molibdatos, arsenitos y silicatos reaccionan con los fosfatos para formar compuestos heteropolímeros, como son el molibdodifosfato amónico (fosfomolibdato de amonio, $(\text{NH}_4)_3[\text{P}(\text{Mo}_3\text{O}_{12})_4]$). La mayoría de las técnicas habitualmente empleadas involucran la determinación de azul de molibdeno formado por reducción del molibdodifosfato mediante una amplia variedad de agentes reductores.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	42 / 143

5.3.1 Calcio

MÉTODO DE REACCIÓN CON UN INDICADOR

Se han empleado varios indicadores específicos para calcio que cambian de color en presencia o ausencia del mismo, como el purpurato amónico (murexida) que es de color púrpura azulado en ausencia del ion y rosa en su presencia; negro eriocromo T [ác. 1-(1 hidroxí-2-naftilazo)-5-nitro-2-naftol-4-sulfónico] que da un color rojo cuando el pH es inferior a 6.3 y azul cuando es superior a esta cifra; y la o-cresolftaleína complexona (metalftaleína de Schwarzenbach) que forma un complejo color rojo con el calcio a pH entre 10 y 12. Este último es el más utilizado en la rutina actualmente.

Fundamento

En solución alcalina el calcio ionizado (Ca^{2+}) forma un complejo violeta con la o-cresolftaleína complexona.

Reacción:

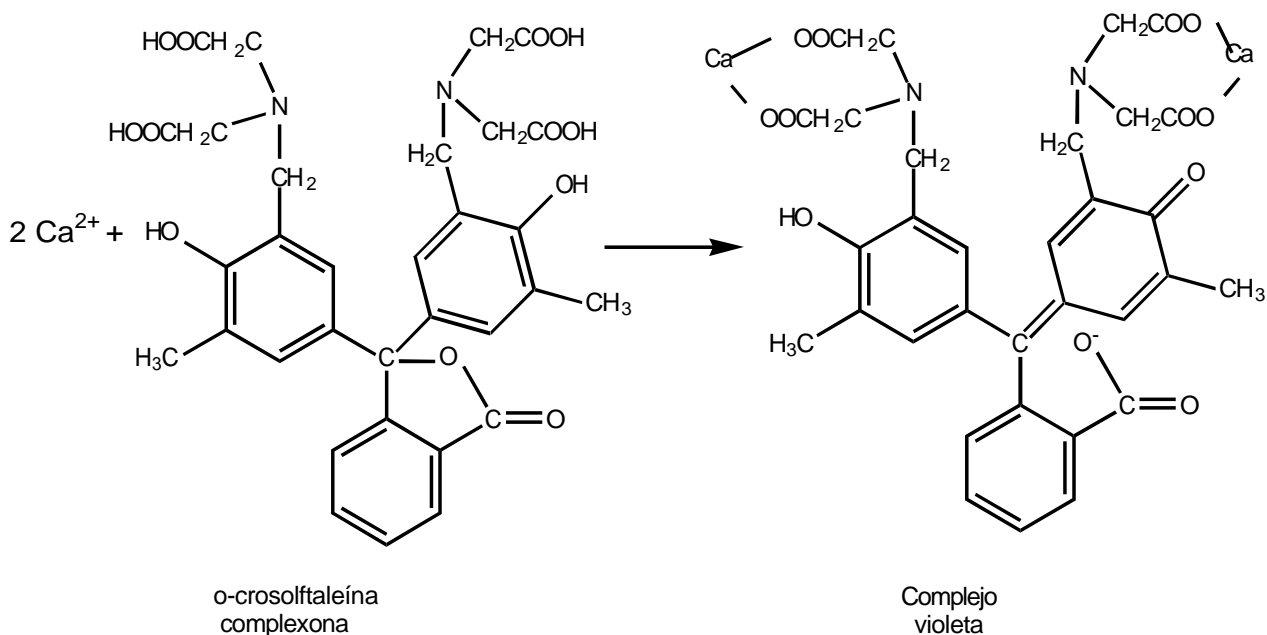


Figura 8. Formación del complejo de calcio con o-cresolftaleína complexona.
Tomado de: AMBC, 1989.

Reactivos: estuche comercial para la determinación de calcio por el método de reacción con o-cresolftaleína complexona.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	43 / 143

Material biológico: suero o plasma heparinizado.

Técnica

Seguir al pie de la letra las instrucciones del estuche comercial disponible.

Cálculos: los indicados en el instructivo del estuche comercial empleado.

Factores de conversión:

$$\text{mg/dL} / \text{L} = \text{mg} / \text{dL} \times 0.25$$

$$\text{mg} / \text{dL} = \text{mg/dL} \times 4.0$$

$$\text{mg/dL} / \text{L} = \text{mg/dL} \times 0.5$$

$$\text{mg/dL} / \text{L} = \text{mg/dL} \times 2.0$$

Valores de referencia:

Muestra	Tradicional*	SI
Suero o plasma		
0 – 12 años	9.2 – 10.9 mg/dL	2.3 – 2.7 mmol/L
> 12 años	8.7 – 10.3 mg/dL	2.2 – 2.6 mmol/L

*Para población mexicana. Tomado de: Olay-Fuentes G, 2013.

5.3.2 Fosfato

MÉTODO COLORIMÉTRICO

El proceso de formación del azul de molibdeno es bastante complejo e indudablemente heterogéneo. Las distintas técnicas de reducción propuestas difieren fundamentalmente en el agente reductor utilizado: cloruro estanoso, fenilhidrazina, hidroquinona, ác. aminonaftolsulfónico, ác. ascórbico, p-metilaminofenol y N-fenilenediamina.

El p-metilaminofenol (Elon), produce un color con bastante tolerancia ácida, muy estable y con una sensibilidad considerable, por lo que es un método recomendable para estandarizar en el laboratorio.

Fundamento

El fosfato inorgánico presente en el suero y otros líquidos corporales forma fosfomolibdato con molibdato de sodio. Por reducción con ácido aminonaftolsulfónico se transforma el fosfomolibdato en azul de molibdeno. La cantidad de azul de molibdeno formado es proporcional a la de fosfato inorgánico existente.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	44 / 143

Reacción:

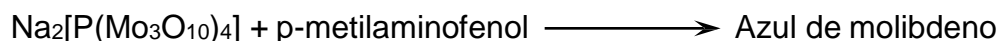
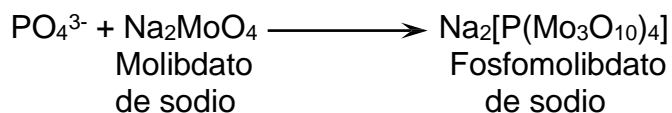


Figura 9. Reacciones llevadas a cabo en la determinación de fosfato por el método de azul de molibdeno.

Reactivos: estuche comercial para la determinación de fósforo por el método colorimétrico.

Material biológico: suero, plasma u orina diluida. La orina se prepara añadiendo 1.0 mL de HCl al 25% a 1.0 mL de orina y se completa con agua destilada hasta 20 mL o 50 mL. Después de mezclar se toman 0.1 mL de esta solución para su análisis.

Técnica

El indicado por la casa comercial del estuche que se disponga, deben seguirse las instrucciones exactamente.

Cálculos: los indicados en el instructivo de la casa comercial.

Factores de conversión: $\frac{\text{mg}}{\text{dL}} = \frac{\text{mmol}}{\text{L}} \times 0.322$

$\frac{\text{mmol}}{\text{L}} = \frac{\text{mg}}{\text{dL}} \times 3.097$

Valores de referencia

Muestra	Tradicional	SI
Suero		
Niños	4.0 – 7.0 mg/dL	1.3 – 2.3 mmol/L
Adultos*	2.3 – 6.0 mg/dL	0.7 – 1.9 mmol/L
Orina	0.7 – 1.5 g/24 h	225 – 483 mmol/L
LCR	0.9 – 2.0 mg/dL	0.3 – 0.6 mmol/L

*Para población mexicana. Tomado de: Olay-Fuentes G, 2013.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	45 / 143

Seminario: RAQUITISMO

Cuestionario

1. ¿En qué padecimientos se encuentran aumentados y disminuidos ambos iones y cuál es su relación?
2. ¿Qué importancia tiene la cuantificación de calcio urinario?
3. ¿Cuál es la diferencia entre raquitismo y osteomalacia?
4. Explique, ¿cómo interviene la vitamina D en el metabolismo de ambos iones?
5. ¿Qué otros hallazgos de laboratorio e imágenes complementan el diagnóstico de raquitismo?

Bibliografía

- Wintermeyer E, Ihle C, Ehnert S, Stöckle U, et al. Crucial role of vitamin D in the musculoskeletal system. *Nutrients* 2016; 8: 319. doi:10.3390/nu8060319
- Ortega-Anta RM, Jiménez-Ortega AI, López-Sobaler AM. El calcio y la salud. *Nutr Hosp* 2015; 31(2): 10-7.
- Christodoulou S, Goula T, Ververidis A, Drosos G. Vitamin D and bone disease. *BioMed Res Int* 2013; 2013. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/396541>
- Olay-Fuentes G, Díaz-Piedra P, Hernández-Gómez R, Cervantes-Villagrana RD, Presno-Bernal JM, Alcántara-Gómez LE. Determinación de intervalos de referencia para química clínica en población mexicana. *Rev Latinoam Patol Clin* 2013; 60(1): 43-51.
- Velásquez-Jones L, Medeiros-Domingo M. Raquitismos hipofosfatémicos hereditarios. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2013; 70(6): 421-31.
- Zuluaga-Espinosa NA, Alfaro-Velásquez JM, Balthazar-González V, Jiménez-Blanco KE, Campuzano-Maya G. Vitamina D: nuevos paradigmas. *Med Lab* 2011; 17(5-6): 211-46.
- Prince RL, Glendanning P. 8: Disorders of bone and mineral other than osteoporosis. *MJA* 2004; 180: 354-9.
- Ragi-Eis S. Vitamina D. Disponible en: URL: http://www.msd.com.mx/msdmexico/hcp/diseases/osteoporosis/articles/articulos.html?id=originalarticle_67_es.22/12/2004.
- Takeda E, Yamamoto H, Nashiki K, Sato T, Arai H, Taketani Y. Inorganic phosphate homeostasis and the role of dietary phosphorus. *J Cell Mol Med* 2004; 8: 191-200.
- Zerpa de Miliani Y, Paoli-Valeri M. Actualización diagnóstico-terapéutica del raquitismo. Revisión. *Rev Venez Endocrinol Metab* 2004; 2(2): 2-9.
- Singh J, Moghal N, Pearce SHS, Cheetman T. The investigation of hypocalcaemia and rickets. *Arch Dis Child* 2003; 88: 403-407.
- Larracilla-Alegre J. Raquitismo hipofosfatémico familiar. Análisis de 14 enfermos. *Cir Ciruj* 1995; 63: 178-83.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	46 / 143

6. ELEMENTOS TRAZAS

Objetivos

- Reconocer el papel y la importancia de los elementos traza en el organismo.
- Determinar la concentración de hierro en una muestra biológica, como ejemplo de los elementos traza.

Introducción

El aumento fenomenal del conocimiento tanto básico como aplicado acerca de los *elementos trazas* sigue constituyendo una sorpresa tanto para los investigadores como para los clínicos. Los avances en la bioquímica, la biología molecular, los métodos analíticos y la inmunología han enriquecido el campo de la investigación de los llamados *oligoelementos* o *elementos trazas*.

Cada nutriente esencial tiene un rango característico de concentraciones tisulares y de ingestas compatibles con el mantenimiento de funciones y de salud satisfactorias. Un objetivo fundamental de la investigación en la nutrición es definir los niveles de ingesta que son seguros desde el punto de vista de toxicidad y adecuados para satisfacer los requerimientos.

El requerimiento absoluto de un nutriente es la cantidad promedio que debe ser absorbida diariamente para mantener las funciones específicas, principalmente enzimáticas, que dependen de dicho elemento, estas funciones no mejoran, aunque los niveles de ingesta se sigan aumentando, convirtiéndose en tóxicos pues en su mayoría son metales que no se eliminan fácilmente.

Tanto en el caso de los elementos aniónicos como catiónicos, el organismo responde a los niveles excesivos de ingesta aumentando la excreción y, en algunos casos, disminuyendo la absorción intestinal. En el caso de las moléculas aniónicas de pequeño tamaño, el exceso que no se puede excretar es almacenado rápidamente en los parénquimas; los elementos catiónicos están sometidos a un control homeostático más estricto ya que sólo se produce su entrada excesiva a los parénquimas cuando se sobrepasa la capacidad de transporte y almacenamiento en las proteínas específicas. Investigaciones efectuadas durante la última década han identificado como *oligoelementos* a algunos que habían sido considerados tóxicos en el pasado, como: selenio, cromo, níquel, arsénico y posiblemente el plomo y el cadmio, pero siempre manteniendo niveles muy bajos.

Uno de los metales esenciales para el organismo es el hierro, que forma parte de la hemoglobina, por ello será el elemento trazas que servirá de ejemplo.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	47 / 143

6.1 HIERRO SÉRICO

Existen pruebas irrefutables de que el suero o plasma contiene más hierro atribuible a la hemoglobina. Este "hierro sérico" ha recibido diferentes nombres según los autores, habiéndole llamado: hierro no hemoglobínico, hierro de transporte, hierro débilmente conjugado o hierro ultrafiltrable.

Casi la totalidad del hierro en suero está unida a una β -globulina, la transferrina, en forma de un complejo Fe^{3+} -proteína, el resto está conjugado con aminoácidos libres; por lo que la mayoría de las técnicas para la determinación de hierro sérico involucran la ruptura del complejo hierro-proteína con HCl.

También se ha demostrado que el Fe^{3+} es coprecipitado con las proteínas séricas por el ácido tricloroacético (TCA), en tanto que el Fe^{2+} no lo es.

Entre los reactivos utilizados para la cuantificación espectrofotométrica del hierro están: tiocianato, 1,10-fenantrolina y 4,7-difenil-1,10-fenentrolina (batofenantrolina), siendo este último es más utilizado en la rutina.

Fundamento:

El hierro unido a proteínas es escindido en un amortiguador de fosfatos débilmente ácido. Se reduce el Fe^{3+} a Fe^{2+} con ascorbato de sodio y se forma un complejo rojo con batofenantrolina sulfonada.

Reacción:

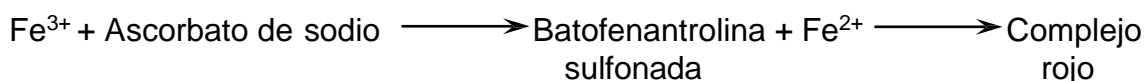
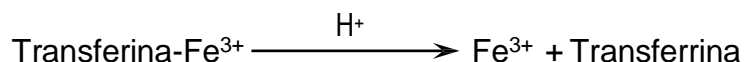


Figura 10. Reacciones para cuantificar el hierro por el método de batofenantrolina.

Reactivos: estuche comercial para la determinación de hierro sérico por el método colorimétrico de batofenantrolina.

Material biológico: suero reciente no hemolizado.

Técnica

Es dependiente del estuche comercial disponible. Seguir al pie de la letra el instructivo.

Cálculos: los indicados en el instructivo del estuche utilizado.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	48 / 143

Factores de conversión: $\mu\text{g/dL} = \text{ng/mL} \times 0.179$

$\mu\text{g/dL} = \text{ng/mL} \times 5.585$

Valores de referencia:

Muestra	Tradicional*	SI
Suero		
Mujeres	10 – 150 $\mu\text{g/dL}$	1.8 – 26.9 $\mu\text{mol/L}$
Hombres	15 – 167 $\mu\text{g/dL}$	2.7 – 29.9 $\mu\text{mol/L}$

*Para población mexicana. Tomado de: Olay-Fuentes G, 2013.

SEMINARIO: DEFICIENCIA DE HIERRO

Cuestionario

1. ¿Cuál es la importancia del plomo, cromo, cobre, zinc y hierro en el organismo?
2. ¿En qué muestras pueden cuantificarse estos metales?
3. ¿Qué es la capacidad de fijación de hierro y cuáles son sus valores de referencia?
4. ¿En qué casos se cuantifica el hierro sérico y por qué?
5. ¿Cuáles son las consecuencias del exceso de hierro en el organismo? Explique el mecanismo.

Bibliografía

- Perel C, Bevacqua RJ. Deficiencia de hierro e insuficiencia cardíaca. Insuf Card 2016; 11(2): 78-97.
- Contreras-Manzano A, de la Cruz V, Villalpando S, Rebollar R, Shamah-Levy T. Anemia and iron deficiency in Mexican elderly population. Results from the Ensanut 2012. Salud Publica Mex 2015; 57: 394-402.
- Kiss JE. Laboratory and genetic assessment of iron deficiency in blood donors. Clin Lab Med 2015; 35(1): 73-91.
- Peyrin-Biroulet L, Williet N, Cacoub P. Guidelines on the diagnosis and treatment of iron deficiency across indications: a systematic review. Am J Clin Nutr 2015; 102: 1585-94.
- Rukuni R, Knight M, Murphy MF, Roberts D, Stanworth SJ. Screening for iron deficiency and iron deficiency anaemia in pregnancy: a structured review and gap analysis against UK national screening criteria. BMC Pregnancy Childbirth 2015; 15:269. doi 10.1186/s12884-015-0679-9
- Shamah-Levy T, Villalpando S, Mejía-Rodríguez F, Cuevas-Nasu L, Gaona-Pineda EB, Rangel-Baltazar E, Zambrano-Mujica N. Prevalence of iron, folate,



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE QUÍMICA CLÍNICA



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	49 / 143

and vitamin B12 deficiencies in 20 to 49 years old women: Ensanut 2012. Salud Publica Mex 2015; 57: 385-93.

- Hiroshi Saito. Metabolism of iron stores. Nagoya J Med Sci 2014; 76: 235-54
- Ruiz-Delgado GJ. Deficiencia de hierro. Rev Hematol Mex 2014; 15: 85-86.
- Olay-Fuentes G, Díaz-Piedra P, Hernández-Gómez R, Cervantes-Villagrana RD, Presno-Bernal JM, Alcántara-Gómez LE. Determinación de intervalos de referencia para química clínica en población mexicana. Rev Latinoam Patol Clin 2013; 60(1): 43-51.
- Ganz T, Nemeth E. Iron metabolism: interactions with normal and disordered erythropoiesis. Cold Spring Harb Perspect Med 2012; 2: a011668
- McDermid JM. Iron. Adv Nutr 2012; 3: 532-3.
- Milman N. Fisiopatología e impacto de la deficiencia de hierro y la anemia en las mujeres gestantes y en los recién nacidos/infantes. Rev Peruana Ginecol Obstetr 2012; 58(4): 293-312.
- Sociedad Argentina de Pediatría. Anemia ferropénica. Guía de diagnóstico y tratamiento. Arch Argent Pediatr 2009; 107(4): 353-61.
- Zarzosa E, Alvarado-Ortíz C, Ruíz O. Papel de los minerales en anemias de distintos orígenes. Horizonte Médico 2006; 6(2): 74-9.
- Savory J, Wills M. Trace metals: essential nutrients or toxins. Clin Chem 1992; 38: 1565-73.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	50 / 143

7. ANÁLISIS GASOMÉTRICO

Objetivos

- Identificar los componentes de un análisis gasométrico.
- Distinguir los cuidados que deben tenerse en la toma y conservación de las muestras.
- Discutir los diferentes métodos empleados para realizarlo.

Introducción

El análisis gasométrico, gasometría o análisis de gases en sangre, suele llevarse a cabo a fin de evaluar el estado ácido-base o el estado de oxigenación respiratoria del paciente. Los parámetros básicos de un análisis gasométrico son: presión parcial de CO_2 (pCO_2), presión parcial de O_2 (pO_2), pH, CO_2 total y concentración de bicarbonato (HCO_3^-), aunque hay instrumentos que miden además la saturación de O_2 (sO_2) en la hemoglobina y calculan el exceso de base.

La gasometría en la actualidad se realiza con microelectrodos, amperímetros y co-oxímetros, sustituyendo los equipos cuyo principio de medición del gas es manométrico (diferencia de presiones a volumen y temperatura constantes) o volumétrico (diferencia de volúmenes a presión y temperatura constantes).

Dentro de las consideraciones a tomar en cuenta cuando se hace un análisis gasométrico es la temperatura y la altura del lugar en donde se está realizando y de dónde reside el paciente. Si no se efectúa el análisis a la temperatura especificada, ha de aplicarse un factor de corrección; y la altura es importante para la interpretación, ya que cambian los valores de referencia.

En la actualidad, la mayoría de los analizadores de gases en sangre disponibles requieren de muestras de sangre total de menos de 250 μL y miden simultáneamente pH, pCO_2 y pO_2 ; aspiran la muestra automáticamente, reduciendo así errores provenientes de la introducción manual. Muchos son controlados por microprocesadores, de modo que la calibración es automática, a intervalos prefijados, y una vez completado el análisis se muestran en una pantalla los parámetros medidos y los calculados.

También se han desarrollado instrumentos no invasores que miden pO_2 y pCO_2 , a través de electrodos transcutáneos que tienen una excelente correlación con la técnica automatizada. La dificultad que plantea el uso de rutina del electrodo transcutáneo de pCO_2 es que no provee una medición de pH para la evaluación completa del estado ácido-base.

Técnica

Por carecer del equipo para hacer la medición, esta actividad será únicamente de seminario.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	51 / 143

Factores de conversión: $pH = pOH \times 0.133$

El pH en unidades SI se expresa en concentración de hidrogeniones (H⁺), recordando que:

$$pH = -\log[H^+]$$

$$[H^+] = 10^{-pH} \text{ (mol/L)}$$

Valores de referencia:

Parámetro	Sangre arterial	Sangre venosa
pH*	7.41 – 7.48	7.39 – 7.44
Concentración de hidrogeniones (nmol/L)*	33 – 39	36 – 41
pCO ₂ (mmHg)*	27 – 33	31 – 38
(kPa)*	3.6 – 4.4	4.1 – 5.0
pO ₂ (mm Hg)*	56 – 70	30 – 35
(kPa)*	7.4 – 9.3	4.0 – 4.6
CO ₂ (mmol/L)	23 – 27	25 – 29
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	22 – 26	24 – 28

*Altura de la ciudad de México (~ 2200 m/NM)

Seminario: ANÁLISIS GASOMÉTRICO

Cuestionario

1. ¿Qué tipo de muestra se toma para la determinación de gases sanguíneos y que cuidados preanalíticos deben tenerse al hacerlo?
2. ¿Hay alguna diferencia entre la medición de una gasometría en sangre venosa y en sangre arterial? Explique y fundamente su respuesta.
3. ¿Cuál es el fundamento para la determinación de cada uno de los parámetros medidos y calculados en la gasometría?
4. ¿Qué es el efecto Bohr? Realice un esquema que muestre las curvas de disociación de la hemoglobina en función del pH y la cantidad de CO₂.
5. ¿Qué es la brecha de aniones y cuál es su importancia en la gasometría?



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	52 / 143

Bibliografía

- Dukić L, Kopčinović LM, Dorotić A, Baršić I. Blood gas testing and related measurements: National recommendations on behalf of the Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine. *Biochem Med (Zagreb)*. 2016; 15; 26(3): 318-36.
- Byrne AL, Bennett M, Chatterji R, Symons R, Pace NL, Thomas PS. Peripheral venous and arterial blood gas analysis in adults: are they comparable? A systematic review and meta-analysis. *Respirology* 2014; 19: 168-75.
- Baird G. Preanalytical considerations in blood gas analysis. *Biochem Med* 2013; 23(1): 19-27.
- Hinojosa-Campero WE. Gasometría arterial y adaptación a la altura. *Rev Méd-Cient "Luz Vida"* 2011; 2(1): 39-41.
- Miranda de la Torre R, Ramírez-Ramírez FJ. Gasometría arterial. Obtención de la muestra e interpretación básica de los resultados. *Rev Med MD* 2011; 2(3): 180-5
- Lee S, Kang KP, Kang SK. Clinical usefulness of the serum anion gap. *Electrolyte Blood Press* 2006; 4: 44-6.
- Pérez-Padilla JR, Vázquez-García JC. Estimación de los valores gasométricos en diferentes alturas sobre el nivel del mar en México. *Rev Invest Clin* 2000; 52(2): 148-55.
- Hinojosa-Pérez JO, Treviño-Báez JD. Utilidad de la gasometría capilar para detectar hiperoxemia en el recién nacido grave. *Bol Hosp Infant Mex* 1999; 56(2): 93-6.
- Carrasco-Vargas H. La evaluación gasométrica en el Hospital Central Militar: análisis cualitativo de 5,169 gasometrías. *Rev Sanid Milit Mex* 1998; 52: 175-82.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	53 / 143

8. PERFIL BIOQUÍMICO RENAL

Objetivos

- Reconocer los componentes de un perfil bioquímico renal.
- Determinar los componentes del perfil renal, tanto los séricos como el examen general de orina.
- Reconocer el papel de estas mediciones como elementos de diagnóstico de problemas renales.

Introducción

Existen numerosos síndromes que, aislados o en combinación, tienen la posibilidad de provocar un daño renal.

La evaluación del daño renal se lleva a cabo por la medición de varios componentes séricos y la orina, lo que conforma los perfiles renales. Son dos los perfiles renales, uno que se encarga de ver la funcionalidad del riñón evaluando sus tres principales actividades: filtración, eliminación y concentración; y el perfil bioquímico renal conformado por las principales sustancias nitrogenadas no proteicas (nitrógeno uréico o urea, ácido úrico y creatinina) y el examen general de orina (EGO).

El perfil bioquímico renal es más solicitado por los médicos que el de funcionamiento, porque como consecuencia de una menor función renal, se observan mayores concentraciones de sus componentes y alteraciones en la orina. Forma parte de la llamada química sanguínea, por lo que muchos profesionales de la salud no identifican que se trata de un perfil específico.

El perfil de funcionamiento renal es solicitado por los especialistas, ya que es más específico y ayuda a aclarar el diagnóstico de un daño renal.

El diagnóstico de enfermedad renal se hace en gran medida en el laboratorio de química clínica, ya que los signos y síntomas clínicos pueden ser mínimos o faltar totalmente, y aún, cuando los hubiera, no siempre reflejan la gravedad o el pronóstico al paciente y pueden ser confundidos con los originados en otro órgano cercano; por ello, las pruebas que miden la retención de compuestos nitrogenados no proteínicos en plasma son de suma importancia. Mediante la determinación de los síntomas clínicos de un individuo y de las anomalías en los resultados de laboratorio, el clínico intenta establecer el diagnóstico del trastorno renal presente.

Así mismo, la medición de la urea y la creatinina es básica para el seguimiento y pronóstico de una enfermedad renal establecida, ayuda a la diferenciación de si es aguda o crónica, al establecimiento del tratamiento y seguimiento del tratamiento, dentro de las acciones más importantes.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	54 / 143

8.1 UREA

La urea es el producto final principal del metabolismo proteínico. Se forma en el hígado, se vierte a la sangre y es eliminada por el riñón. Constituye aproximadamente el 45% del nitrógeno no proteico total del suero o plasma.

La cantidad producida está acelerada por una dieta con elevado contenido proteico o bien por un aumento del catabolismo proteico endógeno, debido a una desnutrición grave o a un daño hístico.

La capacidad del riñón normal para excretar urea es notable, y en presencia de una función renal normal, solo las dietas extremadamente ricas en proteínas pueden originar un aumento de la uremia superior a los niveles de referencia.

Los métodos para la determinación de urea pueden dividirse actualmente en dos:

- Indirectos: Determinación del amonio resultante por acción de la ureasa sobre la urea.
- Enzimáticos/acoplados: Medición, a través de reacciones acopladas, de un producto formado que es directamente proporcional a la concentración de urea.

Debido a que los resultados del análisis de urea en sangre se expresaba originariamente en términos de nitrógeno liberado, la concentración de urea se reportaba en mg de nitrógeno de urea (BUN, *Blood Urea Nitrogen*)/volumen. Lamentablemente, esta forma ha sobrevivido a los años y los cambios en la metodología, por lo que actualmente, aunque el fundamento de las técnicas sea diferente, continúa su uso; además, si reportamos los resultados en unidades SI, el cálculo en mmol/L es en función el nitrógeno uréico.

Las técnicas indirectas son llamadas así porque no se cuantifica directamente el metabolito, sino algún producto de degradación del mismo o el de otra reacción. Las técnicas indirectas para la urea recurren a la enzima ureasa (*urea amidohidrolasa*, E.C. 3.5.1.5.) para descomponer la urea en amonio y CO₂. Después de la reacción se cuantifica cualquiera de los dos productos de reacción, principalmente el amonio. La reacción más comúnmente empleada es la del indofenol de Berthelot, el cual cuantifica el ion amonio producto de la reacción. Existen comercialmente algunas modificaciones al método de Berthelot, y la diferencia radica en los reactivos utilizados para cuantificar el amonio, formando productos más estables y con técnicas menos complicadas.

Así mismo, hoy en día existe comercialmente otro método enzimático que utiliza glutamato deshidrogenasa (GLDH) y NADH en una medición indirecta, pero tiene la desventaja que deben hacerse las lecturas a 340 nm. Otro método comercial colorimétrico es una medición directa de la urea aprovechando su propiedad de modificar al o-ftalaldehído, técnica que se está haciendo muy popular por su sencillez, precisión y rapidez, es un método cinético.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	55 / 143

8.1.1 odo de Berthelot

Fundamento:

La ureasa hidroliza la urea en amonio y anhídrido carbónico; el amonio liberado reacciona con fenol e hipoclorito de sodio para formar p-quinonacloramina; ésta, con una segunda molécula de fenol, produce un compuesto indofenólico de color azul, cuya intensidad es proporcional a la cantidad de urea presente. La reacción se activa en presencia de nitroprusiato de sodio.

Reacción:

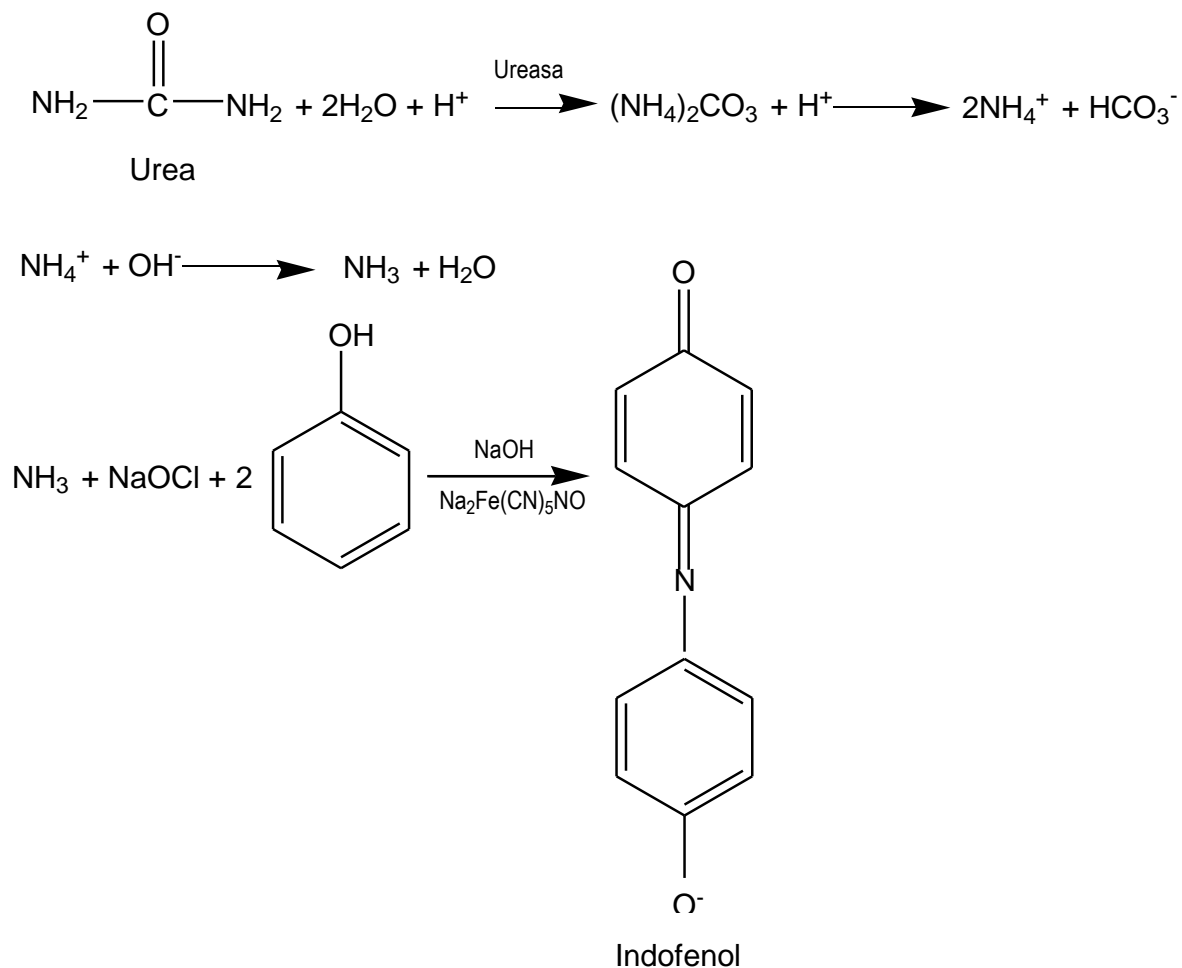
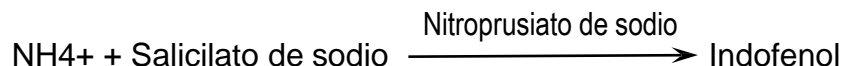


Figura 12. Reacción de la urea por el método de Berthelot. Tomado de: Pesce y Kaplan, 1990.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	56 / 143

La reacción ha sido modificada para que se pueda introducir a un autoanalizador, sustituyendo el fenol por salicilato de sodio y activando con nitroprusiato de sodio para formar el indofenol, por lo que el último paso de la reacción es:



Reactivos: estuche comercial para la determinación de urea por el método de Berthelot modificado.

Material biológico: suero o plasma.

Técnica

Ésta es dependiente del equipo comercial disponible. Debe seguirse al pie de la letra las instrucciones.

Cálculos: los indicados en el instructivo del estuche utilizado.

Factores de conversión:

$$\frac{\text{mg}}{\text{L}} = \frac{\text{mmol}}{\text{L}} \times 0.166$$

$$\frac{\text{mg}}{\text{L}} = \frac{\text{mmol}}{\text{L}} \times 6.006$$

$$\frac{\text{mg}}{\text{L}} = \text{N}_2 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 0.357$$

$$\frac{\text{mg}}{\text{L}} = \text{N}_2 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 2.801$$

Valores de referencia:

Muestra		Tradicional*	SI
Suero o plasma			
Mujeres	0 – 50 años	13 – 41 mg/dL 6 – 19 mg N ₂ /dL	2.1 – 6.8 mmol/L
	> 50 años	17 – 56 mg/dL 8 – 26 mg N ₂ /dL	2.8 – 9.3 mmol/L
Hombres	0 – 50 años	15 – 43 mg/dL 7 – 20 mg N ₂ /dL	2.5 – 7.1 mmol/L
	> 50 años	19 – 58 mg/dL 9 – 27 mg N ₂ /dL	3.2 – 9.6 mmol/L
Relación BUN/Crea			
Mujeres		8.1 – 26.0	NA
Hombres		8.1 – 22.8	

*Para población mexicana. Tomado de: Olay-Fuentes G, 2013. BUN/Crea: nitrógeno uréico/creatinina; NA: no aplica.



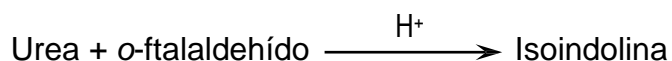
Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	57 / 143

8.1.2 odo de o-ftalaldehído

Fundamento:

La urea presente en la muestra reacciona con o-ftalaldehído en medio ácido originando un complejo colorido que absorbe a 510 nm. Es una medición directa, por lo que la intensidad del color formado es proporcional a la concentración de urea en la muestra ensayada.

Reacción:



Reactivos: estuche comercial para la determinación de urea por el método de o-ftalaldehído.

Material biológico: suero o plasma.

Técnica

Ésta es dependiente del estuche comercial disponible. Debe seguirse al pie de la letra las instrucciones.

Cálculos: los indicados en el instructivo del estuche utilizado.

Factores de conversión: los especificados en el método anterior.

Valores de referencia: los mismos que en el método anterior.

Seminario: GLOMERULONEFRITIS

Cuestionario

1. Realice un esquema del ciclo de la urea e indique las enzimas que participan.
2. ¿Qué hallazgos de laboratorio son importantes para el diagnóstico de glomerulonefritis?
3. ¿Cuál es el papel de la proteinuria en el seguimiento de un paciente con glomerulonefritis? Explique su respuesta.
4. ¿En qué otros padecimientos, a parte de la glomerulonefritis, se encuentran alteraciones del nitrógeno ureico?
5. ¿Cómo se clasifican las enfermedades renales crónicas?



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	58 / 143

Bibliografía

- Coronado CY, Echeverry I. Descripción clinicopatológica de las enfermedades glomerulares. Acta Med Colomb 2016; 41(2): 125-9.
- Ponticelli C, Glassock RJ. Glomerular diseases: membranous nephropathy – A modern view. Clin J Am Soc Nephrol 2014; 9: 609-16
- Floege J. Primary glomerulonephritis: A review of important recent discoveries. Kidney Res Clin Pract 2013; 32: 103-10.
- Olay-Fuentes G, Díaz-Piedra P, Hernández-Gómez R, Cervantes-Villagrana RD, Presno-Bernal JM, Alcántara-Gómez LE. Determinación de intervalos de referencia para química clínica en población mexicana. Rev Latinoam Patol Clin 2013; 60(1): 43-51.
- Bailie GR, Uhlig K, Levey AS. Clinical practice guidelines in nephrology: evaluation, classification, and stratification of chronic kidney disease. Pharmacother 2005; 25: 491-502.
- Isbel NM. Glomerulonephritis. Management in general practice. Aust Fam Physician 2005; 34(11): 907-13.
- Mathieson PW. Glomerulonephritis: is it worth worrying about? Clin Med 2005; 5: 264-6.
- Meyers CM, Geanacopoulos M, Holzman LB, Salant DJ. Glomerular disease workshop. J Am Soc Nephrol 2005; 16: 3472-6.
- Argote E, Castro AL, Otero LM. Glomerulonephritis. Colomb Med 2004; 35(1): 38-45.
- Johnson CA, Levey AS, Coresh J, Levin A, Lau J, Eknoyan G. Clinical practice guidelines for chronic kidney disease in adults: part I. Definition, disease stage, evaluation, treatment, and risk factors. Am Fam Physician 2004; 70: 869-76.
- Johnson CA, Levey AS, Coresh J, Levin A, Lau J, Eknoyan G. Clinical practice guidelines for chronic kidney disease in adults: part II. Glomerular filtration rate, proteinuria, and other markers. Am Fam Physician 2004; 70: 1091-7.
- Levey AS, Coresh J, Balk E, Krausz AT, Levin A, Steffers MW, et al. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. Ann Intern Med 2003; 139: 137-47.
- Kagedal B. Why “urea nitrogen” when urea is measured? [Letter] Clin Chem 1998; 44: 894-5.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	59 / 143

8.2 ÁCIDO ÚRICO

MÉTODO URICASA-PAP

El ácido úrico es el producto final del metabolismo de las purinas en el hombre, y es una de las sustancias nitrogenadas no proteicas. Parte del circulante es endógeno y parte es exógeno y principalmente se excreta por orina.

Las investigaciones efectuadas sobre la metodología de las determinaciones de ácido úrico se han encaminado a mejorar la especificidad de las técnicas. La reducción del ácido fosfotúngstico a azul de tungsteno por soluciones alcalinas de ácido úrico fue aplicada por primera vez al análisis de este compuesto en sangre en 1912, siendo aún un método utilizado en México.

En la búsqueda de mejores métodos, hace tiempo que se recurre a la enzima uricasa para aumentar la especificidad, aprovechando que, ésta oxida el ácido úrico a alantoína y peróxido de hidrógeno. La alantoína, a diferencia del ácido úrico, no posee un pico de absorción en la región de 290-293 nm del espectro de luz ultravioleta, por lo que se han empleado mediciones de absorción a estas longitudes de onda antes y después de la incubación de la muestra con *uricasa* para cuantificarlo, pero no todos los laboratorios tienen espectrofotómetros con capacidad de lectura en esas longitudes de onda, por lo que no es muy práctico para el análisis en rutina.

Una alternativa fue acoplar la reacción para la obtención de un compuesto colorido que sea más accesible para los laboratorios, desarrollándose un método que se basa en la oxidación del peróxido de hidrógeno, producto de la reacción, midiendo su respuesta cromogénica con varios oxidantes, el más utilizado actualmente es la 4-aminofenazona, por lo que es un método PAP o Trinder adaptado a los autoanalizadores y por ello el método de rutina actualmente.

Fundamento:

Es una medición indirecta. El ácido úrico se convierte, catalizado por la uricasa, en alantoína y H_2O_2 . El H_2O_2 formado, catalizado por la peroxidasa, oxida el ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibencenosulfónico y la 4-aminofenazona para dar un compuesto de quinoneimina rojo-violeta que se mide espectrofotométricamente a 520 nm.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	60 / 143

Reacción:

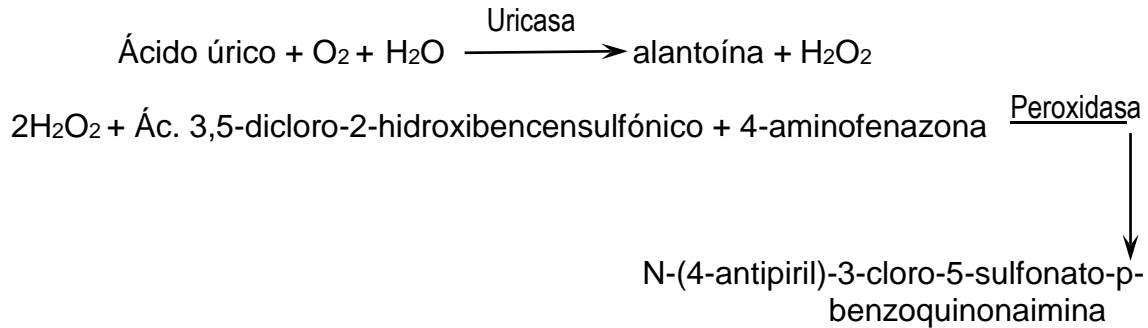


Figura 13. Reacciones para la determinación de ácido úrico por el método uricasa-PAP.

Reactivos: estuche comercial para la determinación de ácido úrico.

Material biológico: suero, plasma u orina diluida 1:10.

Técnica

Es dependiente del estuche comercial disponible. Seguir las indicaciones del inserto.

Cálculos: los indicados en el inserto del estuche utilizado.

Factores de conversión: $\mu\text{g/dL} = \text{mg/dL} \times 59.48$

$\text{mg/dL} = \mu\text{g/dL} \times 0.016$

Valores de referencia:

Muestra	Tradicional	SI
Suero*		
Mujeres	2.4 – 7.2 mg/dL	143 – 428 $\mu\text{mol/L}$
Hombres	3.2 – 9.2 mg/dL	190 – 547 $\mu\text{mol/L}$
Orina	250 – 750 mg/24 h	14.9 – 44.6 mmol/24 h

*Para población mexicana. Tomado de: Olay-Fuentes G, 2013.

Seminario: GOTA



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	61 / 143

Cuestionario

1. ¿Cómo se realiza la síntesis de ácido úrico en el hombre? Realice un esquema.
2. ¿En qué padecimientos se encuentran alterados los valores de referencia de ácido úrico? Tanto aumentados como disminuidos.
3. ¿Qué es un tofo y por qué se forman en el proceso gotoso?
4. ¿Qué pruebas de laboratorio complementan el diagnóstico de gota?
5. ¿Cuál es el mecanismo de acción de la colchicina en la gota?

Bibliografía

- Hyndman D, Liu S, Miner JN. Urate handling in the human body. *Curr Rheumatol Rep* 2016; 18: 34. doi 10.1007/s11926-016-0587-7
- Vargas-Santos AB, Taylor WJ, Neogi T. Gout classification criteria: update and implications. *Curr Rheumatol Rep* 2016; 18(7): 46. doi:10.1007/s11926-016-0594-8.
- Álvarez-Lario B, Alonso-Valdivielso JL. Hiperuricemia y gota: el papel de la dieta. *Nutr Hosp* 2014; 29(4): 760-70.
- Olay-Fuentes G, Díaz-Piedra P, Hernández-Gómez R, Cervantes-Villagrana RD, Presno-Bernal JM, Alcántara-Gómez LE. Determinación de intervalos de referencia para química clínica en población mexicana. *Rev Latinoam Patol Clin* 2013; 60(1): 43-51.
- Gómez-Puerta JA. Gota: nuevos conceptos patogénicos y nuevos agentes terapéuticos. *REv Colomb Reumatol* 2011; 18(3): 163-74.
- Sandoval-Castro CE, Padilla-Ibarra J. Gota. *Rev Med MD* 2011; 3(11): 16-22.
- Fernández DG, Londoño J, Santos P, Reyes E, Valle R. Tratamiento de la gota aguda. *Rev Med* 2009; 17(2): 245-51.
- Choi HK. Pathogenesis of gout. *Ann Intern Med* 2005; 143: 499-516.
- Pascual E, Pedraz T. Gout. *Curr Opin Rheumatol* 2004; 16: 282-286.
- Vázquez-Mellado J, Espinoza J, Hernández-Garduño A, Lino L, Burgos-Vargas R. El diagnóstico y tratamiento de la gota en la ciudad de México. Resultados de una encuesta de médicos. *Rev Inv Clin* 2003; 55(6): 621-8.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	62 / 143

8.3 CREATININA

La creatinina es el anhídrido de la creatina y es formada en gran parte en el músculo por la eliminación irreversible y no enzimática de agua del fosfato de creatina. Tanto la creatina como la creatinina son considerados compuestos nitrogenados no proteicos.

La mayoría de los métodos para la determinación de ambos se basan en la reacción de Jaffé descrita en 1886, y que tiene la distinción de ser el método de química clínica más antiguo aún en uso. Este ensayo está basado en la reacción de la creatinina con una solución alcalina de picrato de sodio. Desgraciadamente este método, tan simple, no es específico para creatinina, existiendo muchas sustancias en la sangre que también reaccionan con el picrato alcalino, además de ser dependiente de: la concentración de ácido pícrico, temperatura, precipitación de proteínas y pH.

Folin y Wu aplicaron la observación de Jaffé a la cuantificación de creatinina y creatina en un filtrado desproteinizado preparado a partir de sangre total, ya que siendo ésta una reacción de punto final, los grupos α -cetometilo o α -cetometileno que se encuentran en las proteínas reaccionan con el picrato alcalino dando complejos muy coloreados.

Posteriormente se propuso un método cinético siguiendo la reacción de Jaffé que requiere de instrumentos capaces de realizar lecturas con intervalos precisos y reproducibles, ya que se realizan lecturas seriadas en un intervalo de 10 a 60 segundos, método que aún existe comercialmente.

En cuanto a métodos enzimáticos dos han sido las enzimas empleadas para este análisis: la *creatinina amidohidrolasa* (EC 3.5.3.10), también denominada "creatinasa" o "creatinina hidrolasa"; y la *creatinina deiminasa* (EC 3.5.4.21), también denominada "creatinina iminohidrolasa", aunque no son tan populares porque sus lecturas son UV.

El método más recientemente desarrollado es el que utiliza creatinasa y sarcosina oxidasa para finalmente observar la reducción del H_2O_2 y la formación de quinonaimina (PAP).



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	63 / 143

8.3.1 Método cinético de Jaffé

Dentro de los cuidados que se deben tener con la reacción de Jaffé están el tiempo de desarrollo de la reacción y la temperatura. Si el tiempo excede a los 15 min. y la temperatura a la cual se lleva a cabo la reacción está por encima de los 30°C, el aumento de color que se observa se debe, casi seguramente, a la formación de metilguanidina y picramato en la reacción.

El método cinético sigue la reacción tradicional, pero con algunas modificaciones que lo optimizan:

- Tiene una baja concentración de ácido pícrico que no produce precipitación de proteínas, por lo que se puede emplear suero o plasma sin desproteinizar.
- Debido al rápido transcurso de la reacción, no interfieren reacciones secundarias que inician más tarde.

Fundamento:

La creatinina reacciona con el picrato alcalino para formar el picrato de creatinina alcalina (complejo de Janowski) de color anaranjado que se mide fotométricamente.

Reacción:

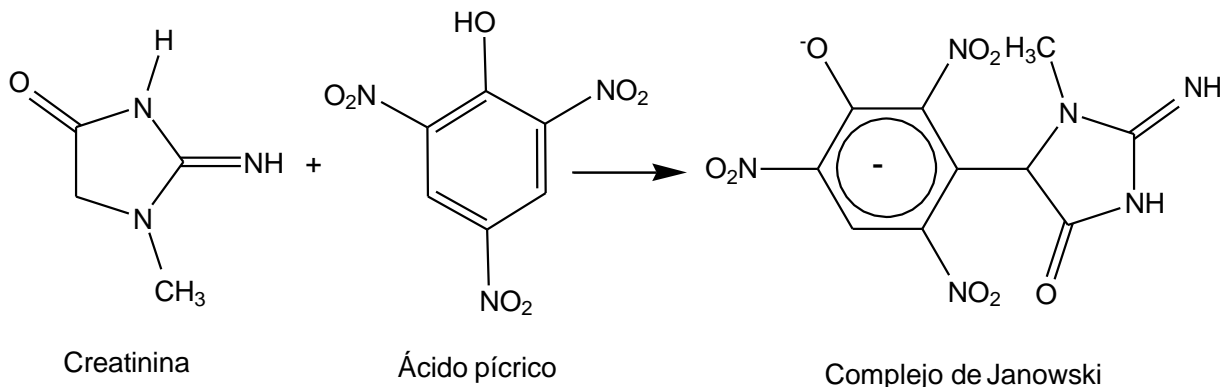


Figura 14. Reacción de la creatinina con ácido pícrico por el método de Jaffé.
Tomado de: Narayanan, 1980.

Reactivos: estuche comercial para la determinación de creatinina por el método cinético.

Técnica

Es dependiente del estuche comercial disponible. Seguir las indicaciones del instructivo al pie de la letra.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	64 / 143

*NOTA: Es muy importante realizar las lecturas EXACTAMENTE a los tiempos especificados en el instructivo.

Cálculos: los indicados en el inserto del estuche utilizado.

Factores de conversión: $\mu\text{mol/L} = \text{mg/dL} \times 88.4$

$\text{mg/dL} = \mu\text{mol/L} \times 0.011$

Valores de referencia:

Muestra	Tradicional	SI
Suero*		
Mujeres	0.6 – 1.0 mg/dL	53.0 – 88.4 $\mu\text{mol/L}$
Hombres	0.8 – 1.3 mg/dL	70.7 – 114.9 $\mu\text{mol/L}$
Orina	7.3 – 24.6 mg/kg de peso en 24 h	0.065 – 0.217 mmol/kg de peso en 24 h
Depuración de creatinina (mL/min)		
Adultos		
Mujeres		70 – 130
Hombres		75 – 140
> 60 años		
Mujeres		50 – 100
Hombres		55 – 115

*Para población mexicana. Tomado de: Olay-Fuentes G, 2013.

8.3.2 *odo Trinder*

Fundamento:

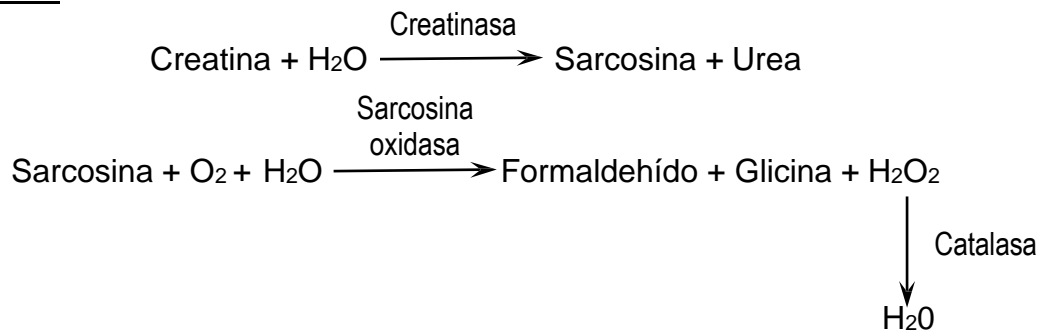
Es una serie de reacciones en dos pasos esenciales. En un primer paso se degrada la creatina presente en la muestra con creatinasa, para después con sarcosina oxidasa producir H_2O_2 que es eliminado por una catalasa. En el segundo paso, la catalasa presente es inhibida por la azida de sodio para posteriormente añadir creatininasa y producir creatina. Se repiten las dos reacciones anteriores para cuantificar finalmente el H_2O_2 generado en la reacción con 4- aminofenazona (PAP). Únicamente el H_2O_2 producto de la reacción sobre la creatina generada a partir de la creatinina de la muestra es el cuantificado.



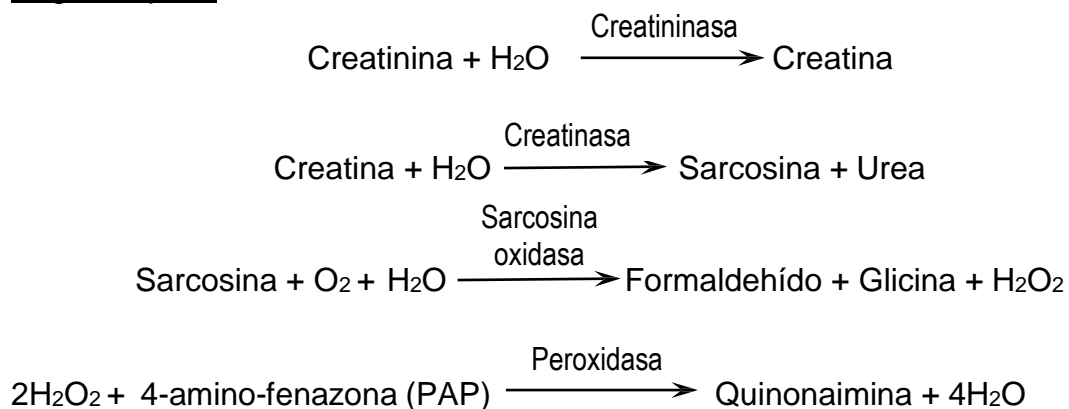
Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	65 / 143

Reacción:

Primer paso



Segundo paso



Reactivos: estuche comercial para la determinación de creatinina por el método Trinder.

Técnica

Es dependiente del estuche comercial disponible. Seguir las indicaciones del instructivo al pie de la letra.

Cálculos: los indicados en el instructivo del estuche utilizado.

Factores de conversión: los especificados en el método anterior.

Valores de referencia: los mismos que en el método anterior.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	66 / 143

Seminario: FILTRACIÓN GLOMERULAR, ACLARAMIENTO O DEPURACIÓN RENAL

Cuestionario

1. ¿Por qué la cantidad de creatinina sérica se mantiene constante en el organismo?
2. ¿Qué sustancias se emplean para la determinación de la filtración glomerular, aclaramiento o depuración renal?
3. Mencione qué características deben tener una sustancia para poder ser utilizada para medir el aclaramiento renal y por qué.
4. ¿Qué otras fórmulas, diferentes a las de depuración de creatinina, existen para el cálculo del aclaramiento renal?
5. ¿Qué es la cistatina C y qué ventajas tiene sobre la creatinina para ser considerada de utilidad en el aclaramiento renal?

Bibliografía

- Levey AS, Becker C, Inker LA. Glomerular filtration rate and albuminuria for detection and staging of acute and chronic kidney disease in adults: a systematic review. *JAMA* 2015; 313(8): 837-46.
- Olay-Fuentes G, Díaz-Piedra P, Hernández-Gómez R, Cervantes-Villagrana RD, Presno-Bernal JM, Alcántara-Gómez LE. Determinación de intervalos de referencia para química clínica en población mexicana. *Rev Latinoam Patol Clin* 2013; 60(1): 43-51.
- Endre ZH, Pickering JW, Walker RJ. Clearance and beyond: the complementary roles of GFR measurement and injury biomarkers in acute kidney injury (AKI). *Am J Physiol Renal Physiol* 2011; 301: F697-F707.
- Perazzi B, Angerosa M. Creatinina en sangre: calidad analítica e influencia en la estimación del índice de filtrado glomerular. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2011; 45(2): 265-72.
- Treviño-Becerra A. ¿Por qué, cómo y para qué medir la filtración glomerular? *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2010; 48(5): 465-7.
- Treviño-Becerra A, Baca-Enciso R, Meza-Coria C, Chávez-Zúñiga MI, Gamboa-Morales VE. Medición de la filtración glomerular comparativa por cistatina C y métodos convencionales basados en la depuración de creatinina. *Rev Hosp Jua Mex* 2010; 77(1): 33-7.
- Capelini-Rodríguez F, Durazo-Quiroz F, Pantoja-Ponce I, Razo-Martínez M. Determinación del filtrado glomerular mediante la ecuación MDRD y estudio comparativo contra la depuración de creatinina en orina de 24 horas. *Rev Latinoam Patol Clin* 2009; 56(2): 113-6.
- Reyes-Marín FA. Análisis de concordancia entre la depuración de creatinina, con la fórmula de la MDRD y la filtración glomerular estimada por el gamagrama renal en donadores renales. *Nefrol Mex* 2008; 29(1): 3-6.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE QUÍMICA CLÍNICA



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	67 / 143

- Myers GL, Miller WG, Coresh J, Fleming J, Greenberg N, Greene T, et al. Recommendations for improving serum creatinine measurement: a report from the Laboratory Working Group of the National Kidney Disease Education Program. Clin Chem 2006; 48: 699-707.
- Filler G, Bokenkamp A, Hofmann W, Le Bricon T, Martinez-Bru C, Grubb A. Cystatin C as a marker of GFR--history, indications, and future research. Clin Biochem 2005; 38: 1-8.
- Herrera-Pérez E, Viguera-Rueda E. Evaluación en el laboratorio clínico del empleo de la cistatina C como prueba sustitutiva de la depuración de creatinina. Rev Mex Patol Clin 2004; 51(1): 49.54.
- Johnson CA, Levey AS, Coresh J, Levin A, Lau J, Eknoyan G. Clinical practice guidelines for chronic kidney disease in adults: part II. Glomerular filtration rate, proteinuria, and other markers. Am Fam Physician 2004; 70: 1091-7.
- Mendoza-Romo MA, Ramírez-Arriola MC. Consideraciones para calcular la depuración de creatinina con la fórmula de Crockcoft en pacientes con diabetes. Med Int Mex 2003; 19(3): 161-4.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	68 / 143

8.4 ANÁLISIS GENERAL DE ORINA

Normalmente, al análisis de la orina se le denomina examen general de orina (EGO), examen de orina o uroanálisis.

El análisis de orina con fines diagnósticos se ha practicado durante siglos y probablemente es el más antiguo de los procedimientos de laboratorio que se emplean actualmente en Medicina. Puede decirse que es una "biopsia del cuerpo" porque nos da información sobre todos los órganos y sistemas del cuerpo, además de ser un estudio no costoso, con espécimen de fácil obtención y con resultados disponibles en minutos.

El uso de pruebas sencillas como son las de: proteínas, azúcares y el examen del sedimento urinario, facilitan habitualmente al médico información valiosa respecto al metabolismo de hidratos de carbono, función renal, infecciones del sistema urinario, equilibrio ácido-base y condiciones hemolíticas.

El análisis de orina lo podemos dividir en tres partes:

- Examen físico
- Examen químico
- Examen de sedimento urinario

Para el análisis químico, se utilizan pruebas cualitativas con tiras o tabletas reactivas y métodos cuantitativos para algunos componentes como proteínas. Con la introducción de estas técnicas sencillas, en vez de hacer el proceso químico completo, se hacen más fáciles y rápidas las determinaciones ya que únicamente hay que realizar la observación de un cambio de color, aumentando a su vez el número de éstas. En la actualidad hay varias casas comerciales que producen este tipo de productos en México.

Por otro lado, debido a que los pacientes diabéticos pueden cursar con nefropatía y no ser detectada a tiempo por el límite de detectabilidad de proteínas en las tiras reactivas comunes, se han introducido al mercado unas tiras reactivas especiales para semicuantificar albúmina en muy pequeñas concentraciones (microalbuminuria).

En ocasiones, las muestras urinarias presentan sustancias que impiden efectuar una correcta interpretación de los colores de las tiras reactivas como pueden ser: metabolitos de algunos fármacos, colorantes vegetales, etc., por ello es necesario tener presente que, de no poder realizarse una correcta lectura de las tiras reactivas, deben implementarse métodos químicos para llevar a cabo el análisis.

Hoy en día, el uroanálisis también se ha automatizado, existiendo lectores de tiras reactivas que tienen como fundamento la reflectancia y equipos que cuantifican los componentes del sedimento a través de citometría de flujo.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	69 / 143

Reactivos:

- Frasco con tiras reactivas comerciales para determinación de parámetros en orina con escala de colores.
- Solución de ácido sulfosalicílico al 3% p/v.....(14)
- Frasco con tiras reactivas comerciales para detección de microalbúmina.

Material biológico: Orina recién emitida.

8.4.1 Examen físico

Es la parte inicial de un análisis de rutina. Comprende la evaluación del volumen, color, aspecto, olor (cuando es diferente del normal) y densidad.

Volumen

El volumen en una muestra al azar puede no ser muy importante, pero es conveniente reportarlo como referencia de la cantidad de muestra en la que se realizó el análisis.

Técnica

- Agitar cuidadosamente la muestra antes de comenzar el análisis.
- Vaciar el contenido en una probeta y medir el volumen total de la muestra.

Color y Aspecto

La orina normal debe ser color amarillo paja. Los colores anormales pueden ser causados por padecimientos. Medicamentos o alimentos.

La orina normal debe ser clara o transparente. Cualquier turbidez u oscurecimiento aparente de la orina debe ser reportado. La causa exacta de la turbidez podrá corroborarse con el examen microscópico, habiendo una buena correlación, a mayor turbidez más sedimento.

Técnica

Observar el color de la muestra bajo buenas condiciones de luz y a través del recipiente contra un fondo blanco. Clasificarlo de acuerdo al cuadro 8.4.1.

Para la turbidez, mezclar perfectamente la muestra y examinarla a través de un recipiente claro, observando con una buena fuente de luz contra un fondo que tenga letras negras o una línea gruesa del mismo color. Anotar la apariencia de la muestra, indicando si es: transparente, ligeramente turbia, turbia o lechosa, Si se aprecian las letras es transparente, si se ven un poco borrosas es ligeramente turbia y si no pueden leerse se reporta como turbia. Si la apariencia es francamente turbia, se reporta como lechosa.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	70 / 143

Cuadro 8.4.1. Clasificación del color de la orina.

Color a reportar	Observación
Incoloro	No presenta coloración, semejante al agua
Amarillo I	Color amarillo paja
Amarillo II	Color amarillo canario
Amarillo III	Color amarillo intenso
Naranja	Francamente anaranjado
Ámbar	Color ligeramente café
Rojo	Rojo en cualquiera de sus tonos
Café	Color semejante a una cerveza oscura
Otro	Cualquier otro color debe informarse

Olor

La orina no tiene olor, excepto por una ligera fragancia aromática. Un fuerte olor a amoníaco indica la presencia de bacterias. Otros olores pueden ser causados por alimentos o medicamentos.

Técnica

Al destapar el frasco percibir el olor que despiden la orina. Registrar cualquier olor fuerte o poco característico.

Densidad

La densidad o gravedad específica de la orina es definida como el peso de la orina comparada con el peso de un volumen igual de agua destilada a la misma temperatura.

Indica la cantidad de sustancias disueltas en la orina, y es una medida parcial de la capacidad del riñón para concentrar orina.

Se puede realizar con un densitómetro, hidrómetro, urinómetro o pesa orina; con un refractómetro o con tira reactiva.

Fundamento:

Los componentes de la orina, así como los elementos formes que se encuentren en ella van a darle una densidad diferente a la del agua, mientras más componentes y elementos formes tenga, mayor será la densidad.

Técnica con densitómetro

- Se requiere de un volumen mínimo de 15 mL.
- Colocar un parte de la muestra en una probeta especial para medir la densidad (aproximadamente 2/3 de la capacidad).



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	71 / 143

- Introducir el densitómetro en la muestra haciéndolo girar sobre la superficie para asegurarse que flote libremente y que no haya formación de burbujas alrededor del densitómetro.
- Leer la escala observando que el densitómetro no toque las paredes o el fondo del recipiente.
- La densidad es afectada por la temperatura y el contenido de proteínas y azúcares de la orina, por lo que hay que restar 0.004 por cada 10 g/L de glucosa, 0.003 por cada 10 g/L de proteínas y 0.001 por cada 3°C por debajo de los 25°C.

Técnica con refractómetro

Los refractómetros miden los sólidos totales en un líquido por determinación del índice de refracción (IR) de la orina.

- Limpiar primero las superficies de la tapa del refractómetro con un lienzo húmedo y luego secar.
- Verificar la calibración del refractómetro con agua destilada, el valor debe ser 1.000.
- Aplicar una gota de orina con una pipeta Pasteur en la parte ranurada de la cubierta de manera que fluya sobre la superficie prismática por acción capilar.
- Dirigir el refractómetro hacia la fuente de luz y leer directamente en la escala de densidad, teniendo en cuenta la línea definida entre la luz y el contraste oscuro.
- Si la densidad es superior a 1.030, diluir la orina a la mitad con agua y leer. Multiplicar los tres últimos dígitos por 3.

Técnica con tira reactiva:

La medición de la gravedad específica (SG) por medio de tiras reactivas está basada en las fuerzas iónicas de la orina. Seguir las indicaciones del análisis químico con tira reactiva que está a continuación.

8.4.2 Examen químico

El análisis químico de la orina comprende la determinación de los diversos componentes disueltos en este espécimen y que son útiles en el diagnóstico.

Medición con tira reactiva

Estas mediciones han permitido al laboratorio clínico generar resultados químicos cualitativos o semicuantitativos de los componentes urinarios más importantes de una manera rápida, precisa y eficiente.

Las tiras reactivas están formadas por una tira de plástico que contiene una o más áreas con reactivos químicos impregnados. Una reacción colorida se desarrolla al entrar en contacto estas áreas con la orina.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	72 / 143

Técnica

- Extraer del envase una tira reactiva y volverlo a tapar herméticamente.
- Mezclar la orina y llenar con la muestra un tubo de 13X100 mL aproximadamente hasta $\frac{3}{4}$ partes.
- Sumergir la tira reactiva en la muestra impregnando perfectamente, remover el exceso de orina colocando la tira de manera lateral y horizontalmente sobre un papel secante (papel sanitario o pañuelo facial).
- Comparar el color obtenido en la tira con la carta de colores del frasco en un lugar bien iluminado. Cada parámetro químico debe evaluarse dentro del período especificado en las instrucciones del fabricante, realizando las lecturas en los TIEMPOS EXACTOS, por lo que hay que tomar el tiempo con cronómetro.
- Los resultados positivos requieren confirmación mediante el diagnóstico y métodos químicos y microscópicos si es necesario, según sea el caso.
- Es importante tener en cuenta las indicaciones de los fabricantes respecto a la identificación de fuentes de inhibidores y resultados falsamente positivos y negativos de cada una de las secciones de la tira reactiva.

Método semicuantitativo para proteínas

La albúmina no es la única proteína encontrada en la orina. La proteinuria puede ser causada por varios tipos de proteínas, como la de Bence-Jones y las globulinas.

Fundamento:

Las proteínas presentes en la orina en condiciones no normales son desnaturalizadas por un reactivo aniónico, como el ácido sulfosalicílico, precipitando y haciendo que la muestra de orina se vuelva más turbia cuanto mayor sea la concentración de proteínas.

Reactivos:

- Solución de ácido sulfosalicílico al 3% (p/v).....(14)

Técnica

- Colocar en un tubo de ensayo de 13X100 mm 3 mL de orina centrifugada.
- Agregar cuidadosamente, resbalando por las paredes del tubo, 3 mL del reactivo de ácido sulfosalicílico, mezclar por inversión tapando el tubo con parafilm.
- Dejar en reposo durante 5 min. Observar el grado de turbidez o nebulosidad.
- Una turbidez apenas evidente se clasifica como \pm 5-10 mg/dL, aunque debe reportarse en grados crecientes de turbidez o nebulosidad de + a +++, de acuerdo al cuadro 8.4.2.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	73 / 143

Cuadro 8.4.2. Interpretación de la prueba de turbidez con ácido sulfosalicílico para proteínas en orina.

Grado	Turbidez	Proteínas (mg/L)
Ninguno	Claro	Negativas
Trazas	Se puede leer con facilidad un impreso a través del tubo.	≤ 200
1+	Se puede leer con dificultad un impreso a través de la muestra.	300 – 1000
2+	El impreso se puede ver, pero no leer fácilmente a través del tubo.	1000 – 2500
3+	El impreso no se puede ver a través del tubo.	2500 – 4500
4+	Se forma un precipitado.	> 4500

Método para detección de microalbuminuria

Es una prueba para el reconocimiento y el control del curso de una nefropatía incipiente; por ejemplo, en diabetes o hipertensión. La microalbuminuria es la excreción de albúmina de 20 a 200 mg/L.

Fundamento:

En la tira reactiva, la orina pasa por una zona que contiene un conjugado de anticuerpo-enzima soluble que se fija específicamente a la albúmina en la orina. El exceso de conjugado se detiene por una zona interceptora que contiene albúmina humana inmovilizada, de manera que sólo el conjugado cargado con albúmina alcanza la zona reactiva. Ahí la enzima β -galactosidasa reacciona con el sustrato formando un colorante rojo, cuya intensidad de color es proporcional, después de exactamente 5 min., al contenido de albúmina en orina.

Técnica

- Disparar el cronómetro y sumergir la tira reactiva durante 5 seg. hasta la zona azul, a continuación, retirarla. **No tocar la pared del recipiente con la tira reactiva ni al sumergirla ni al retirarla.**
- Poner la tira reactiva sobre una superficie no absorbente de forma horizontal.
- EXACTAMENTE, midiendo con cronómetro, después de 5 min. comparar el color de la reacción con la escala cromática indicada en la etiqueta del envase.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	74 / 143

Para la evaluación es importante sólo el color predominante. Pequeños lugares de colores divergentes no deben tenerse en cuenta.

8.4.3 examen de sedimento urinario

Una precisa identificación microscópica es importante para un reconocimiento temprano de condiciones infecciosas, inflamatorias y neoplásicas que afectan al organismo y al sistema urinario.

Son varios los procedimientos microscópicos para el examen denominado del sedimento urinario:

- Microscopía de campo claro sin coloración o examen en fresco.
- Microscopía de campo claro con coloración.
- Microscopía de fase e interferencia.
- Recuento de Addis.
- Método combinado de citocentrifugación-Papanicolau.

El más común de los métodos es la microscopía de campo claro sin coloración. La microscopía común en fresco sin coloración emplea iluminación reducida para delinear los elementos figurados más transparentes de la orina como: cilindros hialinos, cristales y filamentos mucosos.

Recientemente se ha intentado automatizar el sedimento urinario pero dada la variedad de estructuras ha sido un poco complicado sustituir el ojo humano, detectándose por esta metodología únicamente eritrocitos, leucocitos y cilindros con alguna certeza.

Por ello sigue siendo de importancia la capacitación de los químicos clínicos en la lectura microscópicas del sedimento urinario.

Técnica

La muestra de orina debe examinarse inmediatamente, ya que las células y cilindros se comienzan a desintegrar en el término de 1-3 h.

- Mezclar bien la muestra evitando la formación de remolinos.
- Colocar aproximadamente 10 mL de orina en un tubo de 13X100 mm.
- Centrifugar a 1500 rpm durante 5 min.
- Decantar el sobrenadante hasta dejar aproximadamente 1 mL.
- Resuspender el sedimento mediante golpecitos en el fondo del tubo.
- Colocar una gota de la suspensión sobre un portaobjetos limpio y cubrir con un cubreobjetos de 22X22 mm evitando a formación de burbujas.
- Verificar la iluminación del microscopio empleando la técnica de Köhler.
- Antes de comenzar a observar al microscopio es conveniente realizar una revisión de los resultados del examen fisicoquímico.
- Examinar al microscopio a seco débil (10X) y seco fuerte (40X).



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	75 / 143

- El examen con seco débil debe efectuarse con poca luz para la búsqueda de cilindros.
- Identificar los elementos formes que se observen, con ayuda de un atlas de sedimento urinario.
- Tomar en cuenta las siguientes indicaciones:
 - Los cilindros se encuentran a menudo a lo largo del borde del cubreobjetos. Se debe contar el número de cilindros por campo de seco débil en 10 campos. Para identificarlos debe realizarse la observación en seco fuerte.
 - Los eritrocitos, leucocitos y células de epitelio renal se identifican con objetivo de 40X y se cuentan en 10 campos. Las células de epitelio escamosos y de transición son reportadas por apreciación de + a +++.
 - La presencia de bacterias y levaduras deben advertirse, lo mismo que los cristales, reportándose como escaso, moderado o abundante.

El informe del análisis de orina debe ser numérico siempre y cuando sea posible, por eso suele promediarse el contenido de 10 campos representativos.

Valores de referencia:

Hay variación en cuanto al volumen y la densidad, comparando niños con adultos.

Niños

Edad	Volumen (mL/24 h)	Densidad (g/cm ³)
2 – 3 días	130	1.004 – 1.005
4 – 5 días	70 – 200	1.004 – 1.005
6 – 10 días	200 – 300	1.003 – 1.004
1 – 2 meses	250 – 420	1.004 – 1.007
1 – 2 años	500 – 700	1.010 – 1.014
3 – 5 años	600 – 1200	1.010 – 1.014
6 – 8 años	800 – 1300	1.010 – 1.019
9 – 12 años	1000 – 1500	1.010 – 1.020



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	76 / 143

Adultos

Parámetro	Valor	Tira reactiva
Volumen	700 – 1800 mL/24 h	
Color	Amarillo I – ámbar	
Aspecto	Transparente	
Densidad	1.005 – 1.030 g/cm ³	
pH	5.5 – 7.7	5.0 – 8.0
Proteínas	15 – 150 mg/24h	Negativo
Cetonas	120 – 125 mg/24h	Negativo
Bilirrubina	0.02 mg/dL	Negativo
Sangre	3 – 5 eritroc/μL	Negativo
Urobilinógeno	1 – 4 mg/dL	Negativo
Nitritos	0	Negativo
Leucocitos	0 – 5/μL	Negativo
Sedimento		
Leucocitos	0 – 5/campo	
Eritrocitos	0 – 3/campo	
Cilindros	Negativo	
Bacterias	Negativo o escasas	
Levaduras	Negativo	
Parásitos	Negativo	

Seminario: EXAMEN GENERAL DE ORINA

Cuestionario

1. Diga el fundamento para la determinación de: pH, proteínas, glucosa, cetonas, bilirrubina, hemoglobina, leucocitos, urobilinógeno y nitritos en la tira reactiva.
2. Diga el fundamento de la tira reactiva para la determinación de la gravedad específica y por qué es considerada equivalente a la densidad.
3. ¿Por qué algunas casas comerciales incluyen una sección para medir ácido ascórbico en las tiras de orina? ¿Cuál es su valor diagnóstico?
4. ¿Qué son los cilindros? Mencione por lo menos 5 diferentes, indicando las patologías en que es usual encontrarlos.
5. ¿Cuál es el fundamento de la medición del sedimento urinario automatizado?



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	77 / 143

Bibliografía

- Zaman Z. Automated urine screening devices make urine sediment microscopy in diagnostic laboratories economically viable. Clin Chem Lab Med 2015; 53(Suppl): S1509-S11.
- Delanghe J, Speeckaert M. Preanalytical requirements of urinalysis. Biochem Med 2014; 24(1): 89-104.
- Fernández DJ, Di Chiazza S, Veyretou FP, González LM, Romero MC. Análisis de orina: estandarización y control de calidad. Acta Bioquím Clín Latinoam 2014; 48(2): 213-21.
- Bermejo-Hernández YE, Pimentel-Cruz A. Sensibilidad y especificidad del examen general de orina como prueba de escrutinio para infección de vías urinarias en pacientes con diabetes mellitus sin síntomas urinarios. Residentes 2011; 6(3):160-4.
- Gómez-Gaviño V, Jiménez-López C, Vivar-Guzmán NP, Sánchez-Rodríguez MA. Comparación del citómetro UF-100i con el sistema Kova y el método convencional para el conteo de leucocitos y eritrocitos en orina. Bioquímica 2008; 33(2): 51-8.
- Retrospectiva del análisis de orina. IV. LabActa 2006; 18: 61-2.
- Retrospectiva del análisis de orina. V. LabActa 2006; 18:81-6.
- St John A, Boyd JC, Lowes AJ, Price CP. The use of urinary dipstick tests to exclude urinary tract infection. A systematic review of the literature. Am J Clin Pathol 2006; 126: 428-36.
- Brinkman J, de Zeeuw D, Ducher JJ, Gansevoort RT, Kema IP, Hillege HL, et al. Falsely low urinary albumin concentrations alter prolonged frozen storage of urine samples. Clin Chem 2005; 51: 2181-2183.
- Medina-Escobedo M, Villanueva-Jorge S, Gala-Trujano E, Larrocha-Garrido M, Medina-Escobedo C. Comparación entre las lecturas de las tiras de orina Combur¹⁰Test[®]M y Multistix[®] 10 SG. Bioquímica 2005; 30: 76-81.
- Retrospectiva del análisis de orina. I. LabActa 2005; 17: 25-28.
- Retrospectiva del análisis de orina. II. LabActa 2005; 17: 63-64.
- Retrospectiva del análisis de orina. III. LabActa 2005; 17: 102-103.
- Simerville JA, Maxted WC, Pahira JJ. Urinalysis: A comprehensive review. Am Fam Physician 2005; 71: 1153-62.
- Ottiger C, Huber AR. Quantitative urine particle analysis: integrative approach for the optima combination of automation with UF-100 and microscopic review with KOVA cell chamber. Clin Chem 2003; 49: 617-623.
- Fromm P, Bieganiec B, Ehrenrich Z, Barak M. Stability of common analytes in urine refrigerated by 24 h before automated analyses by test strips. Clin Chem 2000; 46: 1384-1386.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	78 / 143

9. PERFIL HEPÁTICO

El hígado es el principal órgano en lo que respecta al metabolismo de los hidratos de carbono, proteínas, lípidos, porfirinas y ácidos biliares, o sea, es la sede del metabolismo primario. Es capaz de sintetizar la mayor parte de las proteínas orgánicas, excepto las gammaglobulinas y la hemoglobina (aunque en etapa fetal sí sintetiza esta proteína). También representa el principal sitio de almacenamiento de hierro, glucógeno, lípidos y vitaminas. Además, desempeña un papel importante en la detoxificación de xenobióticos y en la excreción de los productos metabólicos finales como bilirrubina, amoniaco y urea.

El estudio del hígado se divide en dos: pruebas de funcionamiento hepático y perfil hepático.

Las pruebas de funcionamiento hepático son generalmente utilizadas para identificar hepatopatías en ausencia de ictericia o cuando la ictericia es el resultado de una enfermedad hemolítica y existen dudas acerca de la presencia de una enfermedad hepática concomitante.

El perfil hepático está conformado de métodos analíticos que tienen como objetivos fundamentales: detectar si existe inflamación y/o necrosis celular y, en caso afirmativo, apreciar su extensión, medir su capacidad de síntesis de proteínas y conocer el estado de su participación en el metabolismo de las sustancias endógenas. Se puede decir que el perfil hepático se divide en dos partes:

- Un perfil bioquímico hepático
- Un perfil enzimático hepático

El perfil bioquímico hepático comprende la serie de determinaciones bioquímicas, dentro de las cuales los pigmentos biliares y la albúmina tienen un papel muy importante.

El perfil enzimático hepático comprende varias enzimas que son localizadas en abundancia en ese órgano, y cuya liberación hacia el torrente circulatorio nos indica un daño hepatocelular.

Por otro lado, se denominan pigmentos biliares a los productos del metabolismo de la hemoglobina, hemoproteínas (citocromos, mioglobina, etc.) y eritrocitos inmaduros. Son originados en las células fagocítico mononucleares del hígado (incluyendo las células de Kupffer), bazo, médula ósea y ganglios linfáticos, en donde son destruidos los eritrocitos viejos. Los metabolitos que pertenecen a este grupo son: biliverdina, bilirrubinas, urobilinógenos y urobilinas; y los más importantes desde el punto de vista diagnóstico son las bilirrubinas y el urobilinógeno. Las lesiones hepatocelulares (agudas o crónicas), pueden interferir, en grado variable, las distintas secuencias que tienen lugar en el interior de la célula hepática relacionadas con el metabolismo de la bilirrubina, por lo tanto, ésta es considerada como el pigmento biliar más importante y el que rutinariamente se determina para ver funcionalidad hepática.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	79 / 143

9.1 BILIRRUBINAS

MÉTODO DE JENDRASSIK-GROF (DIAZORREACCIÓN)

Objetivos

- Determinar las bilirrubinas como principales pigmentos biliares y parte del perfil bioquímico hepático.
- Reconocer el papel de estas mediciones como elementos de diagnóstico de problemas hepáticos.

Introducción

En el laboratorio clínico se efectúa generalmente la determinación de bilirrubina total, bilirrubina conjugada o directa y la no conjugada o indirecta. Se podría decir que hay tres métodos básicos para la determinación de bilirrubinas séricas:

- Índice icterico
- Método directo
- Diazorreacción

Un aspecto importante a considerar es que la bilirrubina es una molécula fotosensible, por lo que las muestras deben ser analizadas lo más pronto posible y almacenadas cubiertas de la luz, ya sea natural o artificial. Esta particularidad de la molécula, así como su insolubilidad en agua, hacen que también sea difícil tener un estándar puro como en los demás analitos, recurriéndose a soluciones con matrices proteicas o a factores para obtener los cálculos.

En 1883, Ehrlich describió la reacción de copulación de bilirrubina con ácido sulfanílico diazotado, con formación de un pigmento azul, en soluciones fuertemente ácidas o alcalinas. Van der Bergh aplicó esta reacción a la determinación cuantitativa de bilirrubina en suero; al seguimiento de la reacción de Van der Bergh se ha observado que la bilirrubina prehepática, plasmática o libre solo reacciona después de añadirle una sustancia que facilite la reacción y, por lo tanto, es llamada indirecta a la reacción de Van der Bergh. La poshepática, soluble o conjugada reacciona rápidamente con el diazorreactivo, por lo que es llamada directa. En el método de Jendrassik-Grof se solubiliza la bilirrubina indirecta con una mezcla de cafeína, benzoato y acetato de sodio, para poder cuantificarla, empleando el reactivo de Van der Bergh.

Fundamento:

La bilirrubina total en la muestra se determina por copulación con ácido sulfanílico diazotado tras la adición de cafeína, benzoato y acetato de sodio, formando una azobilirrubina azul. La bilirrubina directa se mide sin la adición del álcali ni mezcla de cafeína-benzoato de sodio-acetato de sodio, como colorante azoico rojo. La bilirrubina no conjugada o indirecta se calcula por la diferencia entre la total y la conjugada.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	80 / 143

Reacción:

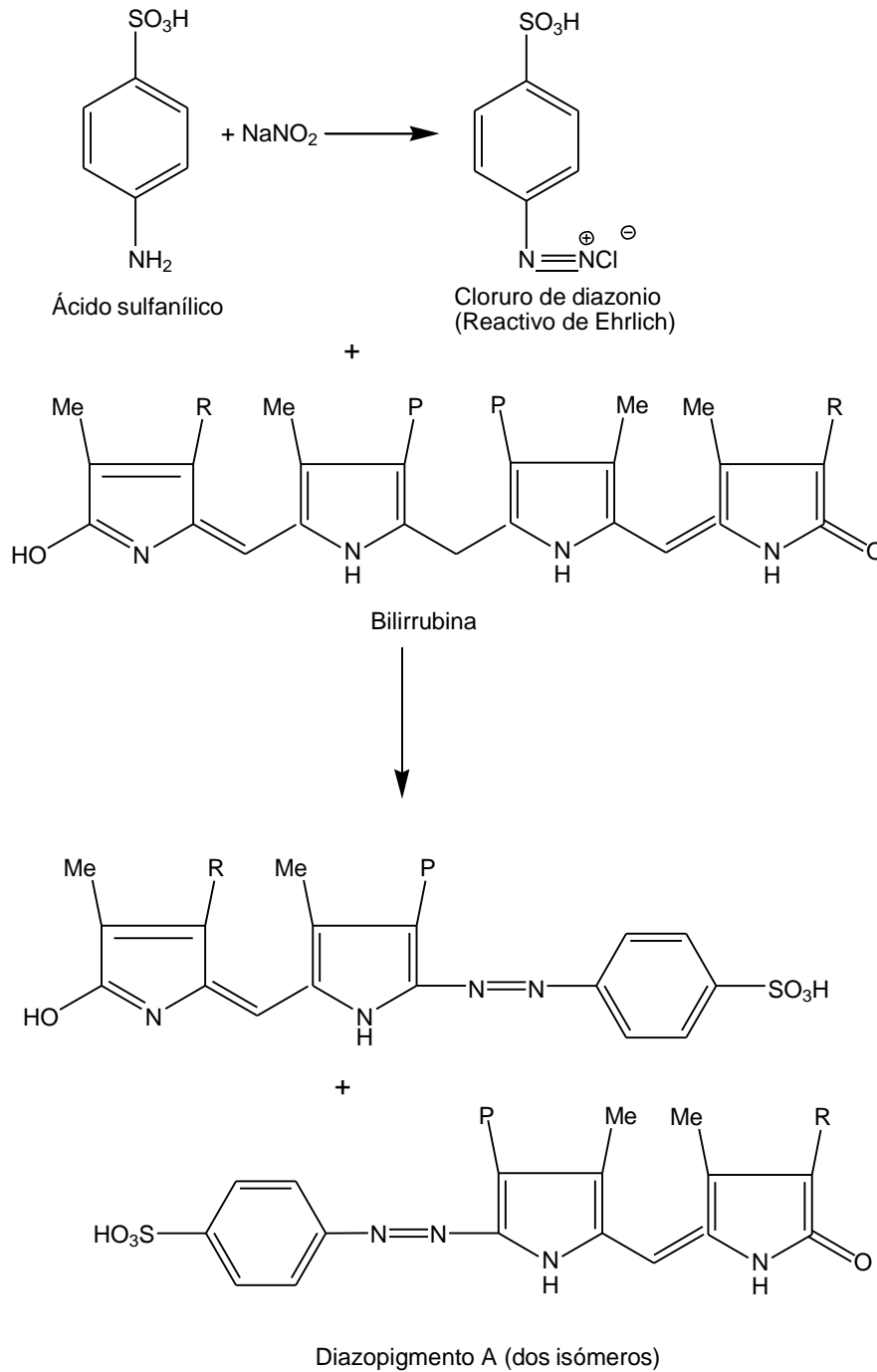


Figura 15. Reacción de bilirrubina en la diazorreacción. Tomada de: Pesce y Kaplan, 1990.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	81 / 143

Reactivos: estuche comercial para la determinación de bilirrubinas por este método.

Material biológico: suero o plasma recién obtenidos.

Técnica

Es dependiente del equipo comercial disponible. Seguir al pie de la letra las indicaciones del inserto, recordando que es una metodología para la bilirrubina directa y otra para la total.

Cálculos: los indicados en el instructivo del equipo utilizado, recordando que hay cálculos para bilirrubina total y bilirrubina directa. Para la bilirrubina indirecta:

$$\text{Bilirrubina indirecta (mg/dL)} = \text{Bilirrubina total} - \text{Bilirrubina directa}$$

$$\text{Factores de conversión: } \mu\text{mol/L} = \text{mg/dL} \times 17.1$$

$$\text{mg/dL} = \mu\text{mol/L} \times 0.058$$

Valores de referencia:

Suero o plasma*	Tradicional	SI
Bilirrubina total	0.22 – 1.04 mg/dL	3.76 – 17.78 $\mu\text{mol/L}$
Bilirrubina directa	0.12 – 0.42 mg/dL	2.05 – 7.18 $\mu\text{mol/L}$
Bilirrubina indirecta	0.09 – 0.65 mg/dL	1.54 – 11.12 $\mu\text{mol/L}$

*Para población mexicana a partir de 1 mes de edad. Tomado de: Olay-Fuentes G, 2013.

Seminario: SÍNDROME HIPERBILIRRUBINÉMICO (ICTÉRICO)

Cuestionario

1. Mencione brevemente en qué consiste la determinación de bilirrubinas por el método de índice icterico y que inconvenientes tiene.
2. Mencione la importancia de la medición de la bilirrubina transcutánea en neonatología y diga cuál es el fundamento de la prueba.
3. Diga ¿a qué se le llama bilirrubina delta y cuál es su importancia diagnóstica?
4. ¿Cuántos tipos de ictericia se conocen y cómo se encuentran los pigmentos biliares en ellos?
5. ¿Qué pruebas de laboratorio complementan el estudio de la ictericia?



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	82 / 143

Bibliografía

- Sticova E, Jirsa M. New insights in bilirubin metabolism and their clinical implications. *World J Gastroenterol* 2013; 19(38): 6398-407.
- Olay-Fuentes G, Díaz-Piedra P, Hernández-Gómez R, Cervantes-Villagrana RD, Presno-Bernal JM, Alcántara-Gómez LE. Determinación de intervalos de referencia para química clínica en población mexicana. *Rev Latinoam Patol Clin* 2013; 60(1): 43-51.
- Acosta-Torres S, Torres-Espina MT, Colina-Araujo JA, Colina-Chourio JA. Utilidad diagnóstica del método de Kramer para la detección clínica de la hiperbilirrubinemia neonatal. *Inv Clín* 2012; 53(2): 148-56.
- Gallegos-Dávila JA, Rodríguez-Balderrama J, Rodríguez-Bonito R, Abrego-Moya V, Rodríguez-Camelo G. Prevalencia y factores de riesgo para hiperbilirrubinemia indirecta neonatal en un hospital universitario. *Med Univer* 2009; 11(45): 226-30.
- Furzán JA, Expósito M, Luchón C. Correlación entre bilirrubina sérica y bilirrubinometría transcutánea en neonatos estratificados por edad gestacional. *Arch Venez Pueric Pediatr* 2007; 70(2): 39-46.
- Quesada LD, Zamora H, Martén A. El enfoque del paciente icterico. *Acta Méd Costarric* 2005; 47(1): 15-23.
- Arriaga-Fiallos W. Bilirrubina delta: una nueva fracción de bilirrubina en el pronóstico de pacientes hepáticos. *Med Hoy* 2002; 18: 21-23.
- Echeverría-Eguiluz JM, Allen-Novelo A, Osorno-Covarrubias L, Briseño-Ordoñez L, Dávila-Velázquez JR. Utilidad diagnóstica de la icterometría transcutánea para detectar hiperbilirrubinemia. Estudio de correlación clínica y bioquímica. *Bol Hosp Infant Mex* 2002; 59(2): 775-81.
- González-González AY, González-Escamilla HA, Garza-Ramos D, González-Aguilar L, González-Aguilar JL, García-Escobar V, et al. Ictericias. *Med Univer* 2000; 2: 203-210.
- Villa-Guillén M, Mata-Sandoval A, Murguía-de Sierra T. Ictericia neonatal I. Fisiopatología, etiología, diagnóstico y encefalopatía bilirrubinémica. *Bol Hosp Infant Mex* 2000; 57: 92-101.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	83 / 143

10. PERFIL ENZIMÁTICO HEPÁTICO

Está constituido por la determinación de la actividad de las enzimas que son liberadas al torrente circulatorio en casos de daño hepatocelular, con o sin necrosis, con o sin ictericia, o por inflamación, que nos ayudan al diagnóstico del tipo de daño y, en ocasiones, a determinar la magnitud del mismo.

Lo conforman las enzimas: *aspartato aminotransferasa* (AST, ASAT, GOT, TGO), *alanina aminotransferasa* (ALT, ALAT, GPT, TGP), *colinesterasa* (pseudocolinesterasa, CHE) y *gamma glutamil transferasa* (γ -GT, GGT), como las principales.

Objetivo

- Reconocer la importancia de cada una de estas enzimas en el diagnóstico de diferentes problemas de lesión y disfunción hepática.

10.1 AMINOTRANSFERASAS

Objetivos

- Determinar la actividad enzimática de las aminotrasferasas en muestras biológicas.
- Interpretar la actividad enzimática de las aminotransferasas como parte importante del diagnóstico del perfil enzimático hepático.

Introducción

Son enzimas que se encuentran en mayor abundancia en hígado, corazón, riñón, tejido muscular, plasma, bilis, líquido cefalorraquídeo (LCR) y saliva. Una destrucción aguda de tejido da como resultado una rápida liberación de las enzimas en el suero.

Constituyen un grupo de enzimas que catalizan la interconversión de aminoácidos y α -cetoácidos, por transferencia de grupos amino. El ácido L-glutámico actúa como donador del grupo amino en la mayoría de las reacciones de transaminación; el fosfato de piridoxal (vitamina B₆) y su análogo amino, fosfopiridoxamina, funcionan como coenzimas en estas reacciones. La nomenclatura para aminotransferasas o transaminasas específicas varía y puede basarse en los dos aminoácidos que intervienen, en uno de ellos y el oxiácido con el cual reaccionan o sólo en un aminoácido bajo el sobreentendido que el otro aminoácido es ácido glutámico. Actualmente se ha acordado el nombrarlas en función del aminoácido sustrato de la reacción.

De todas las aminotransferasas existentes en el organismo, sólo dos son las empleadas para el diagnóstico clínico: la *L-alanina-2-oxoglutarato aminotransferasa*



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	84 / 143

(ALT, antiguamente TGP, EC 2.6.1.2) y la *L-aspartato-2-oxoglutarato aminotransferasa* (AST, antiguamente TGO, EC 2.6.1.1).

La AST se encuentra localizada en la mitocondria y el citoplasma de las células, mientras que la ALT está sólo en el citoplasma, de ahí que en el daño hepatocelular moderado, la ALT alcanza niveles superiores a la AST, mientras que esta última predomina en los casos en que existe algún daño hepatocelular acentuado y una necrosis. La ALT tiene una vida media más grande que la AST en el suero, por lo que los valores elevados persisten a menudo durante un largo periodo de tiempo. Para detectar el daño hepatocelular deben determinarse ambas enzimas.

10.1.1 Método de Reitman-Frankel

El sistema de análisis para medición de la actividad de aminotransferasas contiene dos aminoácidos y dos α -cetoácidos, y por ello se presentan ciertos problemas en la evaluación de la actividad de la enzima. No se dispone de un método cómodo para determinar uno y otro aminoácido presente en el sistema de reacción, por ello, ha de recurrirse a la medición de los α -cetoácidos, ya sea el ácido consumido o el ácido formado en la reacción. Los α -cetoácidos pueden determinarse colorimetricamente por copulación con 2,4-dinitrofenilhidrazina; sin embargo, estos métodos tienen algunos inconvenientes:

- Hay presentes dos α -cetoácidos que pueden formar la fenilhidrazona del ácido (producto colorido).
- A medida que la reacción transcurre, un α -cetoácido aumenta de concentración a la par que el otro disminuye.
- En la reacción catalizada por AST, el oxaloacetato es relativamente inestable.
- La reacción comienza con un α -cetoácido presente (un sustrato) y por ende los testigos de reactivo tienen una alta absorción.
- La concentración de sustrato debe mantenerse en el mínimo, para reducir lo más posible las lecturas altas con el testigo, y por ello pueden ser un factor limitante de la velocidad de reacción.
- α -cetoácidos como el piruvato, normalmente presentes en suero, producen color con fenilhidrazina y contribuyen a una alta absorción del testigo.

A pesar de estas limitantes, el método colorimétrico sigue siendo factible pues las hidrazonas de los productos de ambas reacciones, la catalizada por la AST y la catalizada por la ALT, son consideradamente más cromogénicas que las del α -cetoglutarato; además de que los métodos son relativamente simples. Los resultados obtenidos son comparables con los que se obtienen por los métodos cinéticos.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	85 / 143

ALANINA AMINOTRANSFERASA (ALT) [EC 2.6.1.2]

Reacción enzimática:

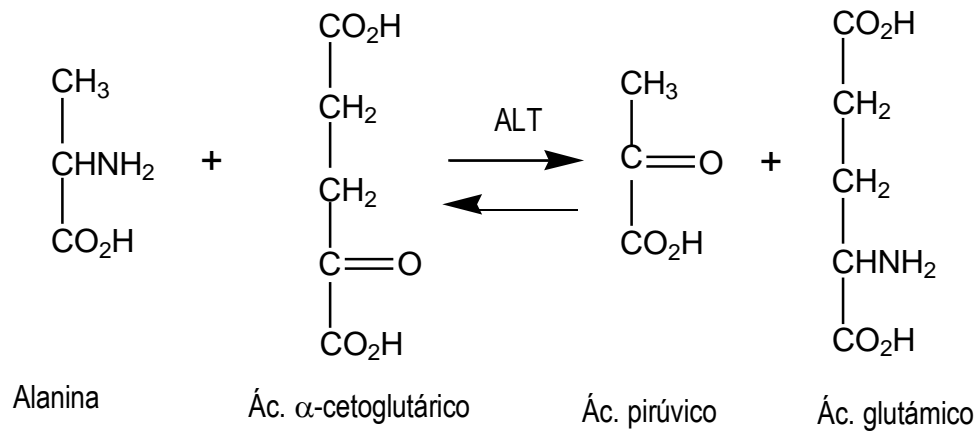


Figura 16. Reacción llevada a cabo por *alanina aminotransferasa (ALT)*. Tomado de: Anderson, 1995.

Fundamento:

La *alanina aminotransferasa (ALT, GPT)* cataliza la transferencia del grupo amino del glutamato al piruvato. Se deja actuar el suero problema en solución amortiguada sobre α -cetoglutarato y alanina, se mide la cantidad producida de piruvato al reaccionar con 2,4-dinitrofenilhidrazina y formar la hidrazona que se mide espectrofotométricamente.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	86 / 143

Reacción:

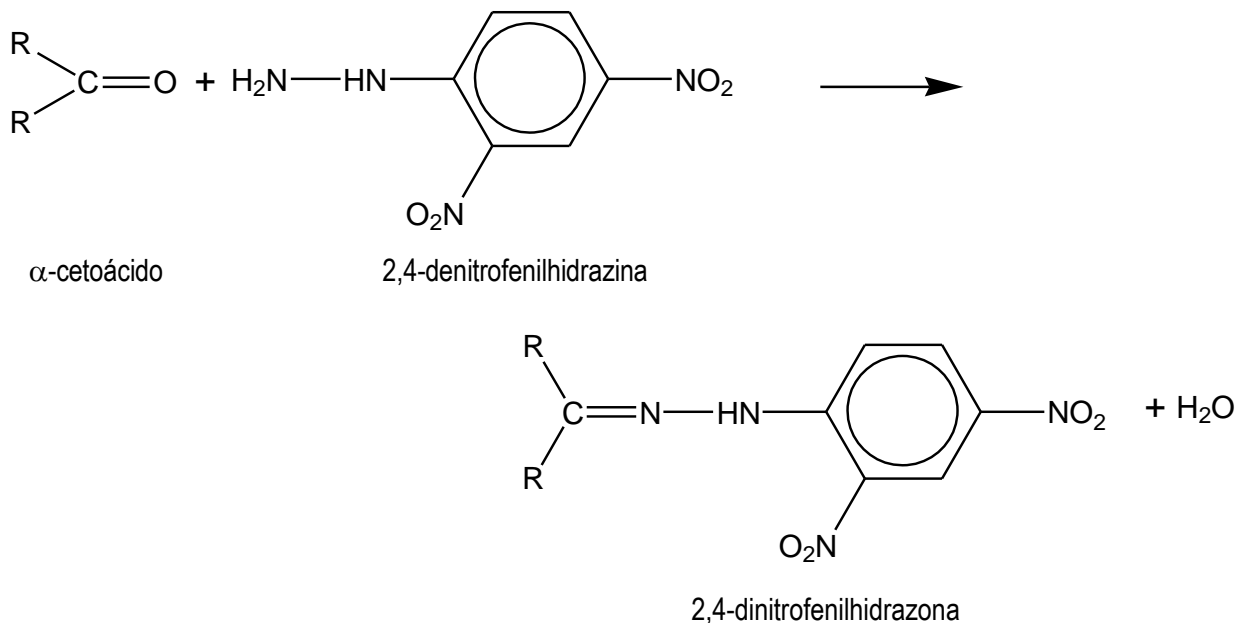


Figura 17. Reacción de formación del complejo colorido en la determinación de actividad de transaminasas según Reitman-Frankel. Tomado de: Pesce y Kaplan, 1990.

Reactivos: estuche comercial para la determinación de ALT por el método colorimétrico de Reitman-Frankel.

Material biológico: suero o plasma reciente, no hemolizado.

Técnica

Seguir al pie de la letra las indicaciones del inserto correspondiente.

* NOTAS:

- Para cada problema se requiere de un blanco testigo o blanco de suero.
- La temperatura y el tiempo de incubación son críticos y deben mantenerse EXACTAMENTE. Una variación de temperatura en un grado representa aproximadamente un 7% de error.

Cálculos: los indicados en el instructivo del estuche utilizado. Generalmente debe realizarse una curva de calibración e interpolar las lecturas en ella para obtener el valor de los problemas.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	87 / 143

Factores de conversión: $\mu\text{kat/L} = U/L \times 16.67$

$$U/L = \mu\text{kat/L} \times 60$$

Valores de referencia:

	Tradicional	SI
Suero o plasma	Hasta 17 U/L	Hasta 283 nkat/L

ASPARTATO AMINOTRANSFERASA (AST) [EC2.6.1.1]

Reacción enzimática:

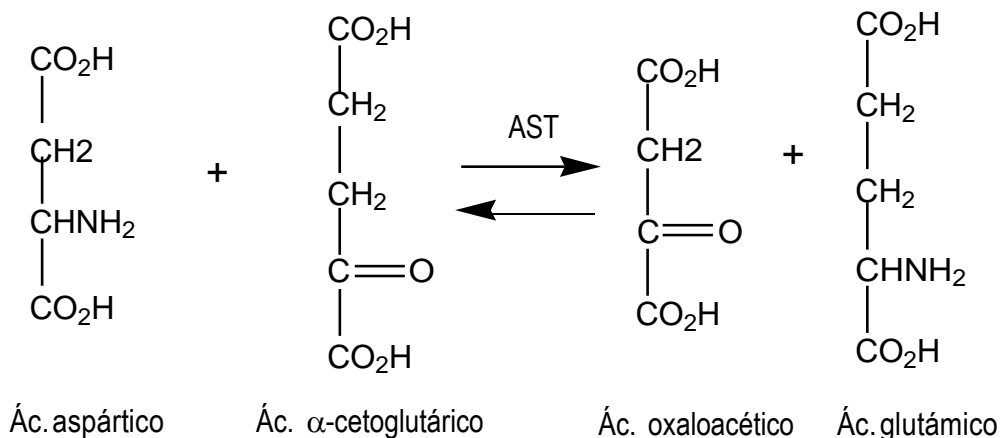


Figura 18. Reacción llevada a cabo por *aspartato aminotransferasa*. Tomado de: Anderson, 1995.

Fundamento:

La *aspartato aminotransferasa* (AST, GOT) cataliza la transferencia del grupo amino del glutamato al oxaloacetato. Para determinar su actividad se deja actuar el suero problema en solución amortiguada sobre α -cetoglutarato y aspartato y se mide la cantidad producida de oxaloacetato.

El oxaloacetato formado reacciona en solución alcalina con 2,4-dinitrofenilhidrazina para formar la hidrazona que se mide fotométricamente.

Reactivos: estuche comercial para la determinación de AST por el método colorimétrico de Reitman-Frankel.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	88 / 143

Material biológico: suero o plasma recientes y no hemolizados.

Técnica

Es dependiente del estuche comercial disponible. Seguir las indicaciones al pie de la letra.

* NOTAS: las ya indicadas para la ALT.

Cálculos: los indicados en el instructivo del estuche utilizado. Por lo general, para estas determinaciones es necesario realizar una curva de calibración para interpolar los resultados.

Factores de conversión: igual que para ALT.

Valores de referencia:

	Tradicional	SI
Suero o plasma	Hasta 20 U/L	Hasta 333 nkat/L

10.1.2 Método Cinético

La naturaleza lábil de las enzimas y el hecho de que la determinación de la actividad enzimática esté basada sobre la cuantificación del grado de una reacción en la cual ellas funcionan como catalizadores, presentan aspectos particulares de técnica que no se encuentran en otros métodos usados en química clínica, donde en su mayor parte, se determinan compuestos estables.

Se denominan métodos cinéticos a los procedimientos en los cuales, una vez que se ha iniciado la reacción por el agregado de la muestra a una mezcla de amortiguador, sustrato y algunas veces activadores, el grado de reacción se determina por el monitoreo a distintos intervalos de tiempo. La mayoría de las veces se realiza por medio de reacciones acopladas, para medir finalmente la presencia de un producto secundario en una reacción o la presencia de una coenzima, como el NAD⁺ en forma oxidada o reducida.

ALANINA AMINOTRANSFERASA (ALT)

Fundamento:

Para la determinación cuantitativa de la actividad de la *alanina aminotransferasa* se deja actuar el suero problema sobre una solución amortiguada, α -cetoglutarato y L-alanina. El piruvato producido se transforma enzimáticamente en lactato por



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	90 / 143

Factores de conversión: Los mismos que para el método de Reitman-Frankel.

Valores de referencia:

Suero o plasma*	Tradicional	SI
Mujeres	7 – 36 U/L	117 – 600 nkat/L
Hombres	9 – 47 U/L	150 – 783 nkat/L

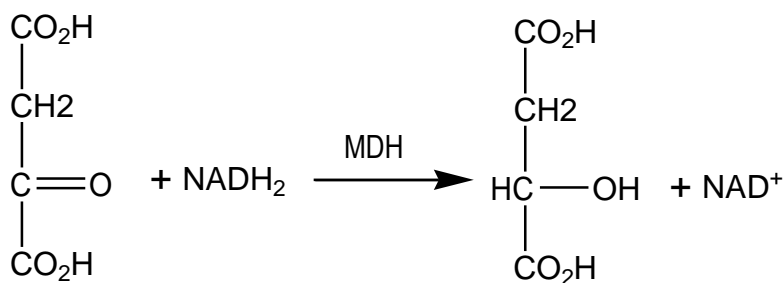
*Para población mexicana. Tomado de: Olay-Fuentes G, 2013.

ASPARTATO AMINOTRANSFERASA (AST)

Fundamento:

Para la determinación de la actividad de la *aspartato aminotransferasa*, se deja actuar el suero problema en solución amortiguada sobre α -cetoglutarato y aspartato. El oxaloacetato producido se transforma enzimáticamente en malato por medio de la *malato deshidrogenasa* (MDH) en presencia de NADH_2 . La velocidad de utilización del NADH_2 puede medirse espectrofotométricamente por disminución de la extinción en la región del ultravioleta cercano.

Reacción:



Ác. oxaloacético

Ác. málico

Figura 20. Reacción cinética para determinar la actividad de *aspartato aminotransferasa* usando ácido oxaloacético como sustrato. Tomado de: Pesce y Kaplan, 1990.

Reactivos: estuche comercial para la determinación de AST por el método cinético UV.

Material biológico: suero o plasma reciente, no hemolizado.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	91 / 143

Técnica

Es dependiente del estuche comercial disponible. Seguir EXACTAMENTE las instrucciones del fabricante.

* NOTAS: las mismas que para la ALT, más las especificadas por el fabricante.

Cálculos: son semejantes a los señalados para la ALT por el método cinético.

Factores de conversión: Los mismos que para el método de Reitman-Frankel.

Valores de referencia:

Suero o plasma*	Tradicional	SI
Mujeres u hombres	12 – 35 U/L	200 – 583 nkat/L

*Para población mexicana. Tomado de: Olay-Fuentes G, 2013.

Seminario: HEPATITIS VIRAL

Cuestionario

1. Mencione qué importancia tiene para el diagnóstico el uso del cociente AST/ALT (cociente de Ritis); cuál es el valor considerado como normal y cuál cuando nos indica la presencia de una enfermedad hepática.
2. Explique por qué las transaminasas se ven elevadas en la hepatitis viral.
3. Realice un cuadro que muestre cuáles son las hepatitis virales que se conocen hasta el momento y cuáles son las características principales de cada una.
4. Realice una gráfica que muestre el comportamiento de las transaminasas durante el proceso de hepatitis viral.
5. Diga cuáles son las pruebas de laboratorio que complementan el diagnóstico de las hepatitis virales, incluyendo las pruebas inmunológicas.

Bibliografía

- Lhomme S, Marion O, Abravanel F, Chapuy-Regaud S, Kamar N, Izopet J. Hepatitis E pathogenesis. *Viruses* 2016; 8: 212. doi:10.3390/v8080212
- Song JE, Kim DY. Diagnosis of hepatitis B. *Ann Transl Med* 2016; 4(18): 338. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.21037/atm.2016.09.11>
- Quesada-Font AJ, Maillo-Fonseca AE, Arévalos-Sánchez M, Espinosa-Guerra AI. Hepatitis Virales. Actualización Bibliográfica. *Multimed* 2014; 18(4). Publicación en línea. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/multimed/mul-2014/mul144n.pdf>



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	92 / 143

- Olay-Fuentes G, Díaz-Piedra P, Hernández-Gómez R, Cervantes-Villagrana RD, Presno-Bernal JM, Alcántara-Gómez LE. Determinación de intervalos de referencia para química clínica en población mexicana. Rev Latinoam Patol Clin 2013; 60(1): 43-51.
- Escobedo-Meléndez G. Hepatitis virales de la A-E en México: actualización en el 2012. Rev Med MD 2012; 3(3):141.
- Poma PA. Hepatitis viral C. An Fac Med 2011; 72(4): 277-90.
- Hernández-Bautista RJ, Martínez-García ME. Importancia diagnóstica e interpretación de las transaminasas en el laboratorio clínico. LabActa 2010; 22(1): 15-23.
- Perdigón-Villaseñor G, Fernández-Cantón SB. Evolución reciente del comportamiento de las hepatitis virales en México, 1990-2007. Bol Hosp Infant Mex 2009; 66: 204-7.
- Barriga-Angulo G, Arumir-Escorza C, Mercado-González F, Molina-Flores X. Marcadores serológicos de hepatitis viral (A, B, C) en pacientes con hepatitis aguda y crónica. Rev Mex Patol Clin 2008; 55(3):143-8.
- Fuji L, Gallegos-Orozco JF. Virus persistence in hepatitis C: lifelong infection despite therapy? Med Univer 2008; 10(41):216-24.
- Barba-Evia JR. Hepatitis G ¿Es realmente una amenaza? Rev Mex Patol Clin 2006; 53(4): 209-28.
- Crockett SD, Keeffe EB. Natural history and treatment of hepatitis B virus and hepatitis C virus coinfection. Ann Clin Microbiol Antimicrobiol 2005; 4: 13. Disponible en: URL: <http://www.ann-clinmicrob.com/content/4/1/13>.
- Giannini EG, Testa R, Savarino V. Liver enzymes alteration: guides for clinicians. CMAJ 2005; 172: 367-79.
- Gómez-Cordero I, Álvarez-García M. Biología y métodos diagnósticos del virus de la hepatitis C. Rev Biomed 2003; 14: 253-68.
- Lai CL, Ratziu V, Yuen MF, Poynard T. Viral hepatitis B. Lancet 2003; 362: 2089-94.
- Poynard T, Yuen MF, Ratziu V, Lai CL. Viral hepatitis C. Lancet 2003; 362: 2095-100.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	93 / 143

10.2 COLINESTERASA Y γ -GLUTAMIL TRANSFERASA

Objetivos

- Determinar la actividad enzimática de las enzimas colinesterasa y γ -glutamil transferasa en muestras biológicas.
- Interpretar la actividad de estas enzimas como parte importante del diagnóstico del perfil enzimático hepático.

Introducción

Estas dos enzimas conforman una extensión del perfil enzimático hepático tradicional. Se ha comprobado que el hígado es la fuente principal de la *colinesterasa* (CHE, EC 3.1.1.8) plasmática. Moderadamente se ha incrementado el interés clínico por esta enzima al observarse su clara dependencia de la función hepática y su utilidad como índice y prueba de funcionamiento hepático. Es importante en el diagnóstico de hepatopatías crónicas ya que su actividad disminuye al igual que la albúmina; también se ha observado una disminución en su actividad por exposición a compuestos organofosforados.

La γ -glutamil transferasa (GGT, γ -GT, EC 2.3.2.2) sérica aumenta generalmente en enfermedades hepáticas. Sufre una elevación antes que otras enzimas hepáticas en trastornos como colecistitis aguda, necrosis hepática aguda y subaguda, pancreatitis aguda y otras. Además, tiene la ventaja de no elevarse en procesos óseos. Se ha propuesto a esta enzima como una prueba de detección para el abuso de alcohol y fármacos como: barbitúricos, antidepresivos y anticonvulsivantes, porque se activa en presencia de éstos.

10.2.1 Colinesterasa (CHE) [EC 3.1.1.8] MÉTODO CINÉTICO

Se han denominado con el nombre genérico de colinesterasas a las esterasas que hidrolizan los ésteres de colina a una velocidad mayor que los demás ésteres. Hay dos tipos de colinesterasas, fundamentalmente basados en ciertas especificidades de sustrato y las susceptibilidades a determinados inhibidores. En primer lugar, está la acetilcolinesterasa (*acetilcolina hidrolasa*), conocida también como colinesterasa eritrocitaria, verdadera, específica o colinesterasa tipo I, que hidroliza la acetilcolina y la acetil- β -metilcolina pero no otros ésteres de colina. El segundo grupo (*acetilcolina acil hidrolasa*) también conocida como colinesterasa sérica, colinesterasa inespecífica, pseudocolinesterasa o colinesterasa tipo II, que actúa sobre diversos ésteres de colina, fenílicos, nitrofenílicos y otros.

La enzima eritrocitaria es inhibida por su sustrato, acetilcolina, si éste se encuentra presente en concentraciones superiores a 10^{-2} M. Las dos son inhibidas por los alcaloides prostigmina y fisostigmina, que contienen un nitrógeno cuaternario



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	95 / 143

Reactivos: estuche comercial para la determinación de la actividad enzimática de colinesterasa por el método cinético.

Material biológico: suero o plasma.

Técnica

Es dependiente del estuche comercial disponible. Seguir las indicaciones al pie de la letra, sobretodo, en las incubaciones y los tiempos de lectura.

Cálculos: los indicados en el instructivo del estuche utilizado.

Factores de conversión: Los mismos que para las transaminasas.

Valores de referencia:

	Tradicional	SI
Suero o plasma	4.7 – 11 U/L	78 – 183 nkat/L

10.2.2 γ -Glutamil transferasa (GGT) [EC 2.3.2.2]

MÉTODO DE SZASZ

Es una de las múltiples peptidasas capaces de romper los enlaces peptídicos terminales de los péptidos o las proteínas, siendo una carboxipeptidasa que ataca específicamente el C-terminal del ácido glutámico.

El ácido glutámico puede transferirse a diversos aceptores adecuados entre los que cabe incluir péptidos, α -aminoácido e incluso agua, pero no D-aminoácidos. La especificidad reside fundamentalmente en la porción γ -glutamil del sustrato. Se emplean varios sustratos: γ -glutamil- α -naftilamida; glicilglicina y glicilglicilglicina, siendo el más ávido de todos los aceptores la glicilglicilglicina. Se ha comprobado que realiza tres reacciones en suero: a) hidrólisis, b) transpeptidación interna y c) transpeptidación externa.

En una enzima que se encuentra en todos los tejidos, pero las concentraciones mayores corresponden al riñón; no obstante, la que está presente en el suero se origina en el sistema hepatobiliar. Su actividad se puede encontrar incrementada en afecciones de conductos biliares, cirrosis, carcinoma metastático y pancreatitis.

El método de Szasz emplea como sustrato la γ -glutamil-p-nitroanilida y como aceptor la glicilglicina. Las ventajas fundamentales de este método son: utiliza concentraciones óptimas de sustrato, posee una gran sensibilidad y es de rápida y fácil ejecución, permitiendo analizar simultáneamente un buen número de muestras.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	96 / 143

Fundamento:

La GGT cataliza la transferencia del grupo γ -glutamil ligado por un enlace peptídico a otro péptido aceptor. En esta prueba se mide el amino-5-nitro-2-benzoato, que se separa del sustrato L- γ -glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida y que absorbe a 405 nm. El grupo γ -glutamil se transfiere a la glicilglicina.

Reacción:

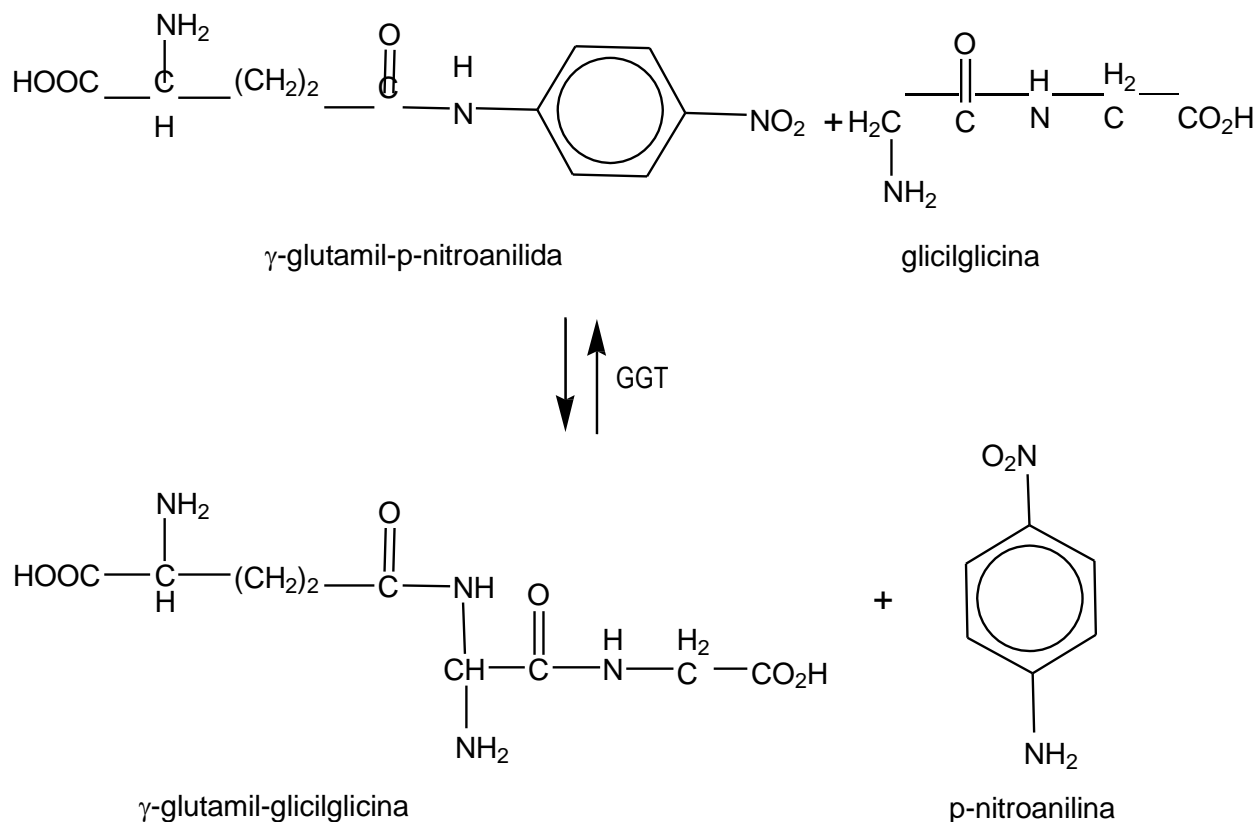


Figura 22. Reacción de determinación de la actividad de GGT por el método de Szasz. Tomado de: Baghavan, 1983.

Reactivos: estuche comercial para la determinación de GGT por el método cinético.

Material biológico: suero.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	97 / 143

Técnica

Seguir las instrucciones del estuche comercial que se disponga. Hay que tener especial cuidado en la temperatura y los tiempos de lectura.

* NOTAS:

- La enzima es estable en suero, tanto si se conserva a temperatura ambiente o en refrigeración, sólo por una semana.

Cálculos: los indicados en el inserto del fabricante. No deben modificarse los factores propuestos en el instructivo.

Factores de conversión: los mismos que para transaminasas.

Valores de referencia:

Suero	Tradicional*	SI
Mujeres	10 – 50 U/L	167 – 833 nkat/L
Hombres	13 – 82 U/L	217 – 1367 nkat/L

*Para población mexicana. Tomado de: Olay-Fuentes G, 2013.

Seminario: CIRROSIS HEPÁTICA ALCOHÓLICA

Cuestionario

1. ¿En qué estados patológicos, a parte de la cirrosis hepática, es de utilidad medir la actividad de la *colinesterasa* y la *γ-glutamil transferasa*?
2. ¿Qué diferencia existe entre la pseudocolinesterasa (CHE) y la colinesterasa verdadera (ACHE)?
3. ¿Qué induce la actividad de la GGT y por qué mecanismo?
4. Explique brevemente el proceso patológico que se lleva a cabo en el hígado para que se convierta en cirrótico.
5. ¿Qué exámenes de laboratorio se deben realizar para un completo diagnóstico de cirrosis hepática alcohólica?

Bibliografía

- Dugum M, McCullough A. Diagnosis and management of alcoholic liver disease. J Clin Transl Hepatol 2015; 3: 109-16.
- Liang R, Liu A, Perumpail RB, Wong RJ, Ahmed A. Advances in alcoholic liver disease: An update on alcoholic Hepatitis. World J Gastroenterol 2015; 21(42): 11893-903.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	98 / 143

- Ramos-López O, Martínez-López E, Román S, Fierro NA, Panduro A. Genetic, metabolic and environmental factors involved in the development of liver cirrhosis in Mexico. *World J Gastroenterol* 2015; 21(41): 11552-66.
- Torok NJ. Update on alcoholic hepatitis. *Biomolecules* 2015; 5: 2978-86. doi:10.3390/biom5042978
- Cequera A, García de León-Méndez MC. Biomarcadores para fibrosis hepática, avances, ventajas y desventajas. *Rev Gastroenterol Mex* 2014; 79(3): 187-99.
- Contreras-Omaña R, Martínez-Silvestre E, Rojas-Corona L, Sines-Ángeles A. Alteraciones de los factores de coagulación y presencia de sangrado variceal en pacientes cirróticos descompensados. *Rev Med MD* 2014; 5(2): 54-9.
- Geuguer-Chávez L, Pedro-González A, LópezVéjar CE, Elizalde-Barrera CI, Guerrero-González J. Concentraciones séricas de GGT como indicador pronóstico de mortalidad intrahospitalaria en pacientes con hepatitis alcohólica severa. *Med Int Mex* 2014; 30: 11-23.
- Olay-Fuentes G, Díaz-Piedra P, Hernández-Gómez R, Cervantes-Villagrana RD, Presno-Bernal JM, Alcántara-Gómez LE. Determinación de intervalos de referencia para química clínica en población mexicana. *Rev Latinoam Patol Clin* 2013; 60(1): 43-51.
- Higuera de la Tijera MF, Pérez-Hernández JL, Servín-Caamaño AI, Serralde-Zúñiga AE, et al. Hepatitis alcohólica. *Rev Med Hosp Gen Mex* 2009; 72(4): 215-21.
- Hines IN, Wheeler MD. Recent advances in alcoholic liver diseases III. Role of innate immune response in alcoholic hepatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287: G310-G314.
- Levitsky J, Mailliard ME. Diagnosis and therapy of alcoholic liver disease. *Semin Liver Dis* 2004; 24: 233-247.
- Benítez-Bribiesca L. La cirrosis hepática ¿Puede ser reversible? *Acta Med Gpo Ángeles* 2003; 1(1): 37-9.
- Pagani F, Panteghini M. Biological variation in serum activities of three hepatic enzymes. *Clin Chem* 2001; 47: 355-356.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	99 / 143

11 PERFIL ENZIMÁTICO CARDIACO

Objetivos

- Determinar la actividad de CK y LDH, con sus respectivas isoenzimas, en muestras de suero.
- Reconocer el papel estas enzimas en el diagnóstico de diferentes problemas de lesiones en el corazón.

Introducción

La medición de la funcionalidad cardiaca en el laboratorio clínico se basa, principalmente, en la medición de la actividad de algunas enzimas. Las enzimas cardíacas son de importancia clínica debido a que la detección de su liberación en el torrente sanguíneo proporciona un indicio sensible y específico de lesión y muerte de la célula miocárdica. Estas enzimas, para que revistan importancia clínica, deben ser solubles y persistir en la circulación un tiempo suficientemente largo para poder ser detectadas.

Especialmente en el infarto al miocardio (IAM), las enzimas cardíacas se aumentan en cerca del 95% de los casos. Después de la instalación de los síntomas del IAM se observa en la mayoría de los pacientes un período durante el cual es posible detectar una elevación de las enzimas liberadas por el tejido miocárdico lastimado. Esta elevación temporal es particular para cada enzima y varía de un paciente a otro, pero se ha establecido un patrón típico con gran importancia diagnóstica. El grado de elevación de los niveles enzimáticos es un índice inexacto de la extensión de la necrosis, pero sirve de pronóstico.

Son cuatro las enzimas cuya actividad es de importancia para el diagnóstico del IAM: *creatina fosfoquinasa* (CK, EC 2.7.3.2), *aspartato aminotransferasa* (AST, EC 2.6.1.1), *lactato deshidrogenasa* (LDH, EC 1.1.1.27) y su isoenzima 1 (LD₁) también llamada *hidroxibutirato deshidrogenasa* (HBDH).

11.1 CREATINA CINASA (CK) [EC 2.7.3.2]

MÉTODO DE ROSALKI (NAC ACTIVADO)

También es llamada *creatina fosfoquinasa* (CPK). Cataliza la fosforilación reversible de creatina por trifosfato de adenosina. La posición de equilibrio de la reacción depende de la concentración de iones hidrógeno.

Es una enzima de estructura dimérica, distinguiéndose dos subunidades: M (músculo) y B (cerebro); por consiguiente, pueden derivarse tres isoenzimas: CK-MM, CK-MB y CK-BB por la combinación de las subunidades.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	100 / 143

Es una enzima que para una máxima actividad necesita la presencia de iones de magnesio, aunque también manganeso y en menor grado calcio actúan como activadores; un exceso de cualquiera de los activadores inhibe la reacción.

Es relativamente estable en el suero, además que puede restablecerse su actividad por adición de un compuesto sulfhídrico como cisteína si ha pasado mucho tiempo desde la obtención de la muestra.

Es la enzima que se ha acreditado e impuesto a nivel internacional como la guía para el diagnóstico de IAM. En la mayoría de los casos, sube lo más tarde a las 6 h. después del infarto agudo y los valores máximos se observan aproximadamente a las 20 h. El nivel de CK facilita información valiosa sobre el tamaño del área infartada. Debido a que la CK total se incrementa en procesos musculares, incluyendo hasta una inyección, la cuantificación de la fracción CK-MB, específica cardiaca, reviste mucha importancia para aclarar el diagnóstico.

Para la determinación de la actividad de la enzima se emplea un método cinético con el uso de dos enzimas: la *hexoquinasa* y la *glucosa-6-fosfato deshidrogenasa*, para transformar finalmente el NADP en NADPH que es lo que se mide espectrofotométricamente.

Fundamento:

Se utiliza la reacción inversa a la biológica con ADP y fosfato de creatina como sustrato. El ATP formado es generalmente un nuevo sustrato para fosforilar glucosa en presencia de *hexoquinasa* (HK). El producto glucosa-6-fosfato es oxidado por NADP en presencia de *glucosa-6-fosfato deshidrogenasa* (G-6-PDH) para formar 6-fosfoglucono-lactona y NADPH₂.

La reacción se sigue midiendo la absorción a 340 nm, a medida que se genera el NADPH. Los reactivos contienen N-acetilcisteína como activador de la CK en el suero fresco.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	101 / 143

Reacción:

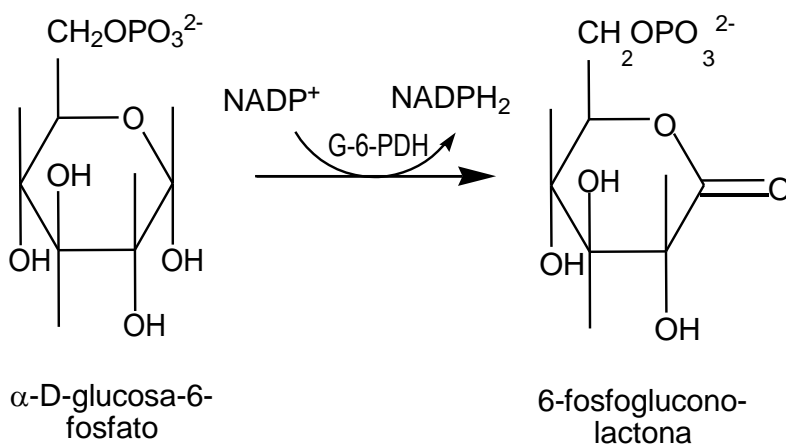
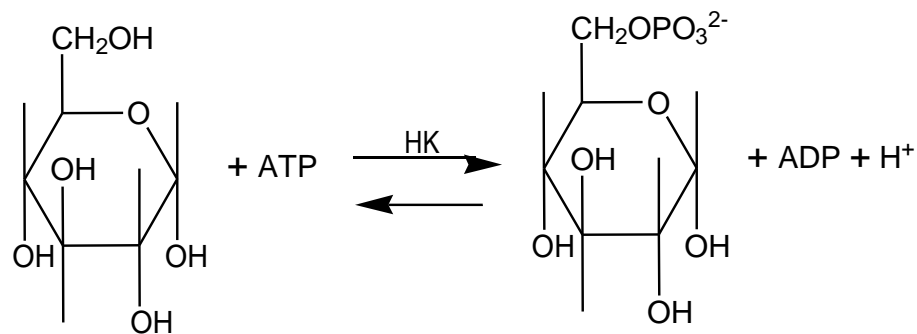
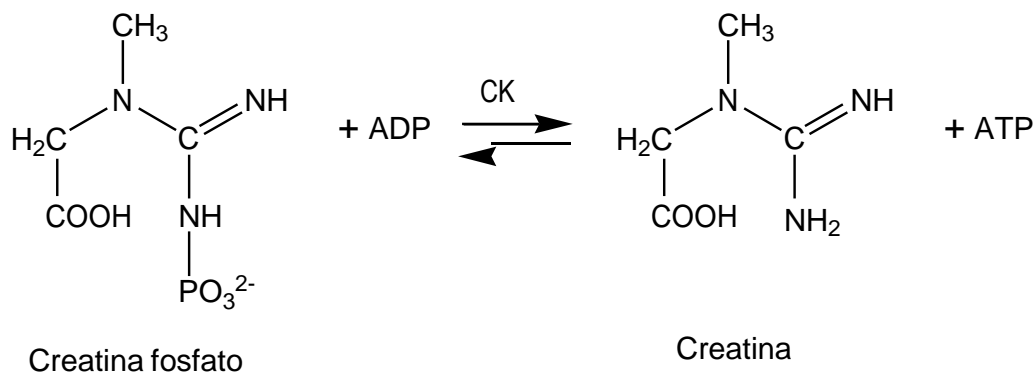


Figura 23. Reacción de determinación de la actividad de CK por el método Rosalki. Tomado de: Anderson, 1995.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	102 / 143

Reactivos: estuche comercial para la determinación de la actividad enzimática de CK que sea NAC-activado.

Material biológico: suero, plasma heparinizado o con EDTA.

Procedimiento: es dependiente del estuche comercial disponible. Seguir al pie de la letra las indicaciones.

*NOTA:

- En estas determinaciones cinéticas, es importante cronometrar los tiempos, definir la longitud de onda a leer con anticipación y la temperatura de reacción.
- Tomar en cuenta estas variables para utilizar el factor de cálculo correcto.

Cálculos: los indicados en el instructivo del estuche utilizado. No modificar los factores de cálculo.

Factores de conversión: los mismos que para transaminasas, si se desea expresar en nkat/L.

Valores de referencia: los especificados en el inserto del estuche utilizado, ya que son variables dependiendo del método.

11.2 CK-MB

MÉTODO INMUNOLÓGICO

Una forma práctica de diferenciar si se tiene un daño a nivel de músculo esquelético o en el miocardio es la determinación de la fracción MB de la CK, que se obtiene por diferentes métodos analíticos, siendo el método inmunológico el más factible de utilizar para propósitos de rutina.

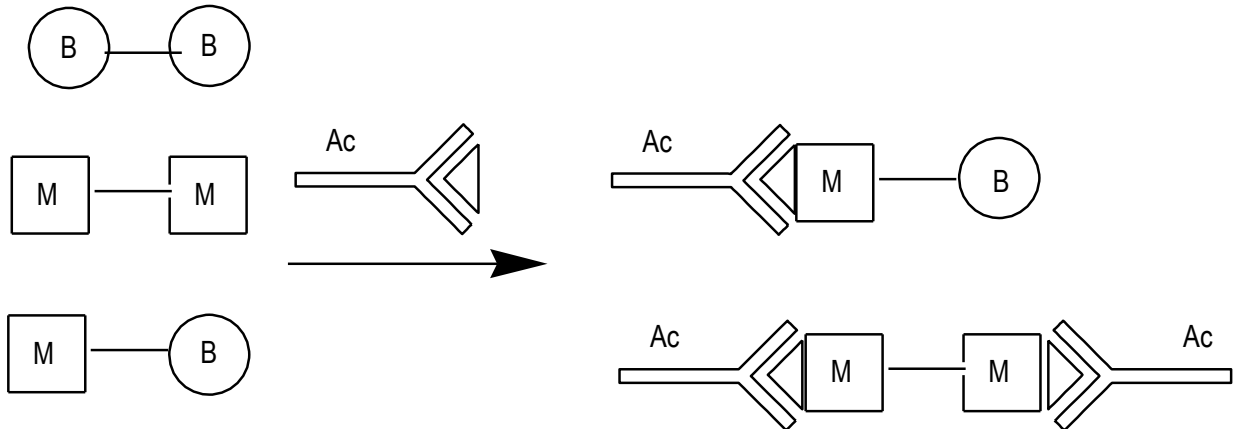
Fundamento:

Los reactivos para determinar la actividad de la *creatina cinasa* contienen además anticuerpos antiCK-M, que inhiben totalmente la actividad de las subunidades M (músculo) de la CK, sin influir sobre la actividad de la subunidad B. Por ello, en la prueba se mide solamente la actividad de la subunidad CK-B en la prueba, partiendo del hecho que la actividad de CK-BB en el suero es prácticamente nula en la patología cardíaca o muscular.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	103 / 143

Reacción:



B = cerebro (*brain*); M = músculo (*muscle*); Ac = anticuerpo.

Figura 24. Reacción inmunológica para la determinación de la actividad de CK-MB. Tomado de Stein, 1988.

Reactivos: estuche comercial para determinación de la actividad de CK-MB activada.

Material biológico: suero o plasma (con heparina o EDTA).

Técnica

La indicada en el inserto del estuche comercial disponible.

Cálculos: obtener los cambios de absorción por minuto ($\Delta E/\text{min.}$) y multiplicar por el factor correspondiente, de acuerdo a la temperatura y longitud de onda de trabajo.

Factores de conversión: los mismos que para transaminasas, si se desea expresar en nkat/L.

Valores de referencia:

	25°C	30°C	37°C
Adultos (U/L) < de:	10	16	25
Adultos (nkat/L) < de:	167	267	417



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	104 / 143

Interpretación:

	25°C	37°
	Alta probabilidad de daño miocárdico	
CK total (U/L)	> 160	> 420
(nkat/L)	> 2667	> 7000
CK-MB (U/L)	> 10	> 25
(nkat/L)	> 167	> 417
CK-MB	> 6% de la actividad total de CK.	
	Alta probabilidad de daño al músculo esquelético:	
CK-MB	< 6% de la actividad total de CK.	

En caso de infartos ocurridos en las 48-60 h anteriores al examen de laboratorio, es posible obtener actividades porcentuales de CK-MB menores al 6%.

11.3 LACTATO DESHIDROGENASA (LDH) [EC 1.1.1.27] MÉTODO CINÉTICO

Es una enzima de transferencia de hidrógeno, que cataliza la oxidación de L-lactato a piruvato por medio de NAD⁺ como aceptor de hidrógeno, es una reacción reversible estando el equilibrio fuertemente desplazado en sentido del lactato.

El pH óptimo de la reacción directa es de 8.8 – 8.9 y de la inversa de 7.2 – 7.8; y depende de una serie de factores: isoenzima más abundante cuantitativamente en el producto que se analiza, la temperatura, el amortiguador y la concentración del sustrato.

Está ampliamente distribuida en los tejidos, por lo que molecularmente existen 5 isoenzimas que se numeran de acuerdo a su movimiento electroforético a partir del ánodo: LD₁, LD₂, LD₃, LD₄ y LD₅.

La enzima purificada, es muy inestable cuando está disuelta en agua, pero bastante estable en sulfato amónico concentrado y en presencia de otras proteínas. Las muestras de suero pueden guardarse a temperatura ambiente durante dos o tres días sin pérdida significativa de actividad.

Se han descrito una gran cantidad de procedimientos para la medida de la actividad total de la LDH. El más directo es el análisis espectrofotométrico basado en registrar la velocidad con que aumenta o disminuye la absorción a 340 nm que corresponde al máximo de absorción para la NADH.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	105 / 143

Fundamento:

Para la valoración cuantitativa de la actividad enzimática, se deja actuar la enzima sobre piruvato y NADH_2 , y se mide la disminución de la densidad óptica a 340 nm.

Reacción:

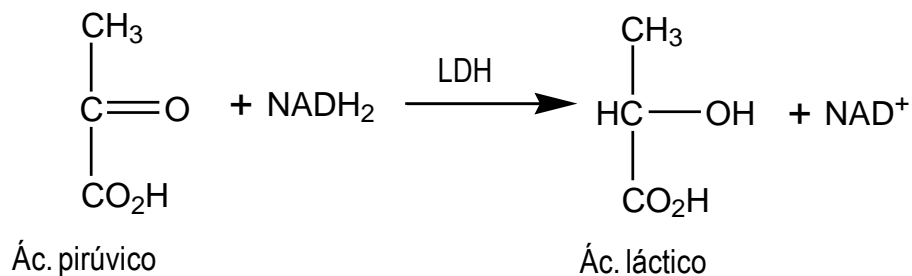


Figura 25. Reacción de determinación de la actividad de LDH por el método cinético. Tomado de: Anderson, 1995.

Reactivos: estuche comercial para la determinación de la actividad enzimática de LDH por el método cinético.

Material biológico: suero reciente, no hemolizado.

Técnica

Dependiente del estuche comercial disponible. Seguir las indicaciones al pie de la letra.

***NOTAS:**

- La actividad enzimática cae rápidamente cuando en el material de vidrio que se emplea quedan restos de detergente, aunque sea trazas.
- Controlar la temperatura seleccionada de reacción.

Cálculos: los indicados en el instructivo del estuche utilizado.

Factores de conversión: Si se desea transformar de U/L a nkat, emplear los mismos factores que para transaminasas.

Valores de referencia: La actividad de la enzima va disminuyendo conforme avanza la edad y es diferente para hombres y mujeres, por lo que es muy recomendable establecer valores por grupos de edad y sexo.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	106 / 143

	Tradicional (U/L)*	SI (nkat/L)
Mujeres		
0 – 5 años	147 – 392	2450 – 6535
6 – 10 años	185 – 263	3084 – 4384
11 – 15 años	136 – 237	2267 – 3951
> 15 años	124 – 249	2067 – 4151
Hombres		
0 – 5 años	166 – 404	2767 – 6735
6 – 10 años	187 – 316	3117 – 5268
11 – 15 años	150 – 282	2500 – 4701
> 15 años	133 – 232	2217 – 3867

*Para población mexicana. Tomado de: Olay-Fuentes G, 2013.

11.4 LD₁ O HIDROXIBUTIRATO DESHIDROGENASA (HBDH) MÉTODO DE ROSALKI-WILKINSON

Quando se hace un corrimiento electroforético para el fraccionamiento de LDH en pacientes con infarto al miocardio se observan proporciones relativamente altas de LD₁ y LD₂. Posteriormente se reportó que la fracción LD₁ y en menor grado la LD₂ tienen mucho mayor actividad si se emplea como sustrato α -hidroxibutirato en la reacción directa o α -cetobutirato en la inversa, que con piruvato.

Esta valoración, junto con la determinación de LDH total, es de gran apoyo diagnóstico diferencial, pues la razón HBDH/LDH ayuda a distinguir las alteraciones cardíacas de las hepáticas.

Fundamento:

Para la valoración cuantitativa de la actividad de las deshidrogenasas del miocardio, se deja actuar el suero problema con α -cetobutirato y NADH₂ midiendo la aparición del NAD⁺ siguiendo la disminución de la densidad óptica a 340 nm.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	107 / 143

Reacción:

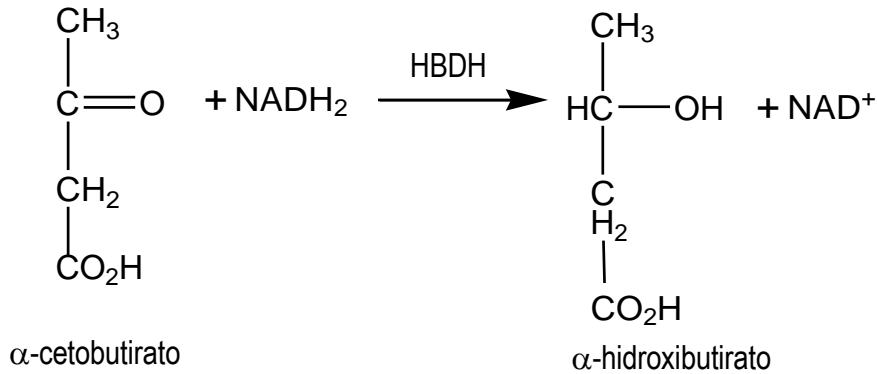


Figura 26. Reacción de determinación de la actividad de HBDH por el método de Rosalki-Wilkinson. Tomado de: Kaplan, 1986.

Reactivos: estuche comercial para la determinación de la actividad enzimática de HBDH.

Material biológico: suero reciente, no hemolizado.

Técnica

Dependiente del estuche comercial disponible. Seguir las indicaciones del fabricante sin modificaciones.

Cálculos: los indicados en el inserto del estuche utilizado.

Valores de referencia: los reportados en el inserto del estuche utilizado. Para la relación HBDH/LDH:

	25°C	30°C	37°C
HBDH/LDH	0.63 – 0.81	0.53 – 0.68	0.45 – 0.58

Seminario: INFARTO AL MIOCARDIO

Cuestionario

1. ¿Qué es el síndrome coronario agudo? Explique brevemente.
2. Realice un esquema que muestre como se incrementan y a que tiempos las enzimas: CK, CK-MB, HBDH, AST y LDH en un infarto al miocardio.
3. ¿Qué otras pruebas de laboratorio y gabinete se usan para complementar el diagnóstico de IAM?



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	108 / 143

- ¿Qué es el péptido natriurético B?
- Explique el papel de los nuevos marcadores cardiacos, troponinas y péptido natriurético B, en la patogenia del IAM.

Bibliografía

- Cervellin G, Mattiuzzi C, Bovo C, Lippi G. Diagnostic algorithms for acute coronary syndrome. Is one better than another? *Ann Transl Med* 2016; 4(10): 193. doi: 10.21037/atm.2016.05.16
- Cervellin G, Rastelli G. The clinics of acute coronary syndrome. *Ann Transl Med* 2016;4(10):191. doi: 10.21037/atm.2016.05.10
- Danese E, Montagnana M. An historical approach to the diagnostic biomarkers of acute coronary syndrome. *Ann Transl Med* 2016;4(10):194. doi: 10.21037/atm.2016.05.19
- Bassan R, Bassan F. Unidades de dolor torácico: optimización del manejo de paciente con dolor torácico en los servicios de urgencias. *Rev Fed Arg Cardiol* 2011; 40(1): 17-22.
- NACB Writing Group, Apple FS, Jesse RL, Newby LK, et al. National Academy of Clinical Biochemistry and IFCC Committee for Standardization of Markers of Cardiac Damage Laboratory Medicine Practice. Guidelines: analytical issues for biochemical markers of acute coronary syndromes. *Circulation* 2007; 115: e352-e355.
- NACB Writing Group Members, Morrow DA, Cannon CP, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice. Guidelines: clinical characteristics and utilization of biochemical markers in acute coronary syndromes. *Circulation* 2007; 115: e356-e375.
- Vargas-Alarcón G, Frago JM, Delgadillo H. Síndrome coronario agudo. *Rev Inv Clin* 2011; 63(1): 64-74.
- Bozbas H, Yildirim A, Muderrisoglu H. Cardiac enzymes, renal failure and renal transplantation. *Clin Med Res* 2006; 4: 79-84.
- Achar SA, Kundu S, Norcross WA. Diagnosis of acute coronary syndrome. *Am Fam Physician* 2005; 72: 119-126.
- Doust JA, Pietrzak E, Dobson A, Glasziou P. How well does B-type natriuretic peptide predict death and cardiac events in patients with heart failure: systematic review. *BMJ* 2005; 330: 625. Disponible en: URL: <http://www.bmj.com/cgi/content/full/330/7492/625>.
- Large GA. Contemporary management of acute coronary syndrome. *Postgrad Med J* 2005; 81: 217-22.
- Martínez RN, Sanhueza LMC, Chaparro-Ravazzano F, Prieto DJC. Infarto agudo al miocardio: características clínicas y relación entre el tiempo promedio de consulta y su killip de ingreso. *Rev Soc Cient Est Med Univ San Sebastián* 2005; 1: 21-4.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	109 / 143

12 PERFIL ENZIMÁTICO PANCREÁTICO

Objetivos

- Determinar la actividad de α -amilasa en muestras de suero.
- Reconocer el papel amilasa y lipasa en el diagnóstico de diferentes problemas de lesión pancreática.

Introducción

El páncreas es una glándula que se localiza hacia la pared posterior del abdomen y está rodeado en tres de sus lados por el duodeno. Cumple dos funciones diferentes:

- Es una glándula endocrina que sintetiza las hormonas glucagon, insulina y gastrina.
- Es una glándula exocrina al proporcionar las enzimas digestivas en un fluido llamado "jugo pancreático" que contiene bicarbonato con el objeto de facilitar la digestión duodenal de las sustancias alimenticias.

Las funciones endocrinas son llevadas a cabo por un grupo de células denominadas islotes de Langerhans, que contienen células alfa, beta y delta.

Las funciones exocrinas son producidas por células con agrupamiento acinar. El páncreas produce numerosas enzimas proteolíticas: α -amilasa, lipasa, fosfolipasa A, colesterol esterasa, ribonucleasa y desoxirribonucleasa.

Debido a la dualidad de funciones, para medir la totalidad de la acción pancreática es necesario verificar tanto la función endocrina como la exocrina. La evaluación pancreática se ha visto enormemente facilitada por el desarrollo de técnicas de intubación que permiten la introducción de diversas sondas en el interior de regiones específicas del tracto gastrointestinal, constituyéndose así las pruebas especiales de funcionalidad pancreática.

Desde el punto de vista bioquímico, dos son las enzimas pancreáticas utilizadas en el diagnóstico: α -amilasa (AMS, EC 3.2.1.1), tanto sérica como urinaria, y lipasa sérica (LPS, EC 3.1.1.3).

12.1 α -AMILASA (AMS) [EC 3.2.1.1]

MÉTODO 2-CLORO-P-NITROFENILA-D-MALTOTRIÓSIDO (CNP-G3)

Las amilasas forman parte de un grupo de hidrolasas que desdoblan polisacáridos como almidón y glucógeno. La enzima rompe las cadenas en enlaces α -1,4 alternos, con formación de maltosa y algo de glucosa residual, y un residuo de dextrina límite en el caso de poliglucanos de cadena ramificada.

Se conocen dos tipos de amilasas: las α -amilasas o amilasas animales y las β -amilasas o exoamilasas bacterianas.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	110 / 143

La *amilasa* de suero humano tiene un pH óptimo entre 6.5 y 7 y proviene principalmente del páncreas y las parótidas.

Hay una gran variedad de métodos para la determinación de la actividad de α -*amilasa* que emplean diversos sustratos: almidón de papa, de maíz y "soluble" de Litner; amilosa, amilopectina y glucógeno. Estos métodos se dividen en:

- Sacarogénicos: miden los azúcares reductores formados.
- Viscosimétricos: miden la disminución de la viscosidad en una solución de almidón.
- Turbidimétricos: miden la disminución de la turbidez en una solución de almidón.
- Yodométrico o amiloclástico: miden la disminución de un complejo de yodo-almidón.
- Polisacáridos unidos a colorantes.
- Sustrato-cromogénico.

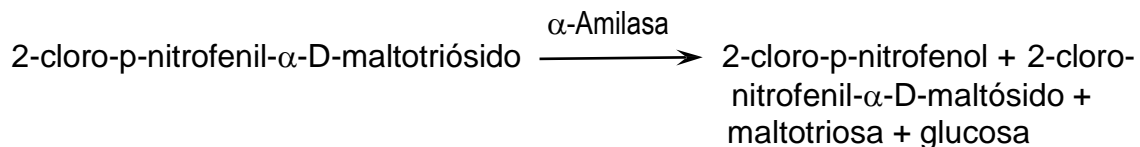
Y pese a ello, aún siguen apareciendo nuevas técnicas.

De entre los múltiples métodos y modificaciones publicados, el procedimiento amiloclástico de Street-Close continúa siendo el método de referencia. El método que utiliza 2-cloro-p-nitrofenil- α -D-maltotriósido (CNP-G3) como sustrato cromogénico es el comercialmente más difundido.

Fundamento:

La α -amilasa hidroliza el sustrato 2-cloro-p-nitrofenil- α -D-maltotriósido (CNP-G3) liberando 2-cloro-p-nitrofenol (CNP) y formando 2-cloro-nitrofenil- α -D-maltósido (CNP-G2), maltotriosa y glucosa. El CNP absorbe a 405 nm y la velocidad de aparición del color es directamente proporcional a la actividad enzimática.

Reacción:



Reactivos: estuche comercial para la determinación de la actividad enzimática de α -amilasa por el método CNPG3.

Material biológico: suero reciente no hemolizado, plasma heparinizado, orina. Si se va a almacenar, ajustar el pH de la orina aproximadamente a 7.0 antes de conservar.

Técnica

Dependiente del estuche comercial disponible. Seguir las indicaciones del fabricante sin modificaciones.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	111 / 143

***NOTA:**

- Es importante cronometrar los tiempos, definir la longitud de onda a leer con anticipación y la temperatura de reacción.
- Tomar en cuenta estas variables para utilizar el factor de cálculo correcto.
- La saliva y el sudor contienen α -amilasa. Evitar el pipeteo con la boca y el contacto de la piel con el reactivo o material empleado.

Cálculos: los indicados en el inserto del estuche utilizado.

Factores de conversión: Si se desean obtener los resultados en unidades SI, multiplicar por el factor indicado para transaminasas.

Valores de referencia:

	25°C	30°C	37°C
Suero o plasma hasta	85 U/L 1.4 μ kat/L	100 U/L 1.7 μ kat/L	125 U/L 2.1 μ kat/L
Orina hasta	455 U/L 7.6 μ kat/L	540 U/L 9.0 μ kat/L	680 U/L 11.3 μ kat/L

Valor crítico sérico: 1200 U/L.

Seminario: PANCREATITIS AGUDA

Cuestionario

1. ¿Qué diferencia química existe entre α - y β - amilasa?
2. Describa el mecanismo bioquímico de daño en el páncreas cuando existe una pancreatitis aguda.
3. Realice un esquema que muestre el comportamiento de α -amilasa y lipasa en la pancreatitis aguda.
4. ¿Qué otros exámenes de laboratorio son necesarios para dar un buen diagnóstico de pancreatitis aguda?
5. ¿Qué es la macroamilasa y cómo sabemos que está presente en la pancreatitis aguda?

Bibliografía

- Ocampo C, Basso S. Diagnóstico de la pancreatitis aguda. Acta Gastroenterol Latinoam 2016; 46(2): 126.
- Basnayake C, Ratnam D. Blood tests for acute pancreatitis. Aust Prescr 2015; 38: 128-30.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	112 / 143

- Meher S, Subhadarshan Mishra T, Kumar Sasmal P, Rath S, et al. Role of biomarkers in diagnosis and prognostic evaluation of acute pancreatitis. *Jf Biomark* 2015; 2015. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/519534>
- Álvarez-López F, Castañeda-Huerta ND. Pancreatitis aguda. *Rev Med MD* 2014; 5(2): 80-5.
- Gutiérrez-Jiménez AA, Castro-Jiménez E, Lagunes-Córdoba R. Calcio sérico total y calcio corregido como predictores de severidad en pancreatitis aguda. *Rev Gastroenterol Mex* 2014; 79(1): 13-21.
- Díaz C, Garzón S, Morales-Uribe CH, Montoya-Jaramillo M. Pancreatitis aguda grave. Curso clínico, manejo y factores asociados con mortalidad. *Rev Colomb Cir* 2012; 27: 281-9.
- Fierro-López R, Bolívar-Rodríguez MA, Cazares-Aguilar MA, Martínez-García JJ, Peraza-Garay FJ, González-Jaúregui CA. Incremento de la amilasa y lipasa en pacientes con dolor abdominal agudo de origen no pancreático y pancreático. *Rev Med UAS* 2012; 3(2): 52-5.
- González-González JA, Castañeda-Sepúlveda R, Martínez-Vázquez MA, García-Compean D, et al. Características clínicas de la pancreatitis aguda en México. *Rev Gastroenterol Mex* 2012; 72(4): 167-73.
- Gutiérrez-Grobe Y. Pancreatitis aguda por hipertrigliceridemia. *Rev Invest Med Sur Mex* 2012; 19(3): 170-5.
- Lizarazo-Rodríguez JI. Fisiopatología de la pancreatitis aguda. *Rev Colomb Gastroenterol* 2008; 23(2): 187-91.
- Bhatia M. Apoptosis versus necrosis in acute pancreatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 286: 189-196. Disponible en: URL: <http://www.ajpgi.physiology.org/cgi/content/full/286/2/G189#BIBL>.
- Nagar AB, Gorelick FS. Acute pancreatitis. *Curr Opin Gastroenterol* 2004; 20: 439-443. Disponible en: <http://www.medscape.com/viewarticle/488046>.
- Butler J, Bates D. Serum amylase and acute pancreatitis. *Emerg Med J* 2003; 20: 550-551. Disponible en: URL: <http://www.emj.bmjournals.com/cgi/content/full/20/6/550>.
- Gutiérrez-Vázquez I, Domínguez-Maza A, Acevedo-Mariles JJ. Mecanismos fisiopatológicos de la pancreatitis aguda. *Cir Gen* 2003; 25(2): 95-102.
- Sánchez-Lozada R, Acosta-Rosero JV, Chapa-Azuela O, Hurtado-López LM. Etiología como determinante de la severidad en la pancreatitis aguda. *Gac Med Mex* 2003; 139(1): 27-31.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	113 / 143

13 ENZIMAS DE PROCESOS MALIGNOS

Se denominan procesos malignos a la serie de padecimientos que llevan a un cáncer. El cáncer ocupa uno de los primeros lugares en México como causa de muerte; y es un proceso a largo plazo, que progresa a través de 4 fases obligadas: inducción, localización *in situ*, invasión y diseminación.

Para el diagnóstico de cáncer se ha buscado durante muchos años marcadores tumorales que sean positivos en todos los casos de cáncer y negativos en la ausencia de ellos, pero aún no se ha encontrado un ideal, aunque tenemos algunos que resultan muy alentadores.

El estudio de los marcadores tumorales ha permitido que el supuesto marcador encontrado atravesase por 3 fases. En un principio que se considere al marcador tumoral como perfecto. Una segunda fase que se caracteriza por la desconfianza; y una tercera fase en donde hay una transición en la cual se acepta que el marcador no es tan bueno como se postuló inicialmente, pero que aún posee sus méritos en algunos casos selectos o en ciertas circunstancias.

Se han utilizado diversos compuestos bioquímicos como marcadores, de entre los cuales se destacan los antígenos de proteínas, oncogenes y enzimas.

Particularmente, se ha reportado el uso de varias pruebas enzimáticas en el manejo de pacientes con cáncer. Al igual que lo que sucede con numerosos marcadores tumorales, el empleo de los marcadores enzimáticos se acompaña de muchas dificultades. No todos los pacientes con un tipo particular de cáncer muestran elevaciones del nivel de actividad de la enzima en cuestión y muchas enfermedades no cancerosas se asocian con una elevación de muchas de estas enzimas. Por consiguiente, el empleo más frecuente de estas determinaciones consiste en la obtención de estimaciones semicuantitativas de la respuesta terapéutica o como indicadores del pronóstico, más que de diagnóstico de un proceso maligno.

Las enzimas más utilizadas para el seguimiento de los procesos malignos son las fosfatasa, ácida y alcalina; a *lipasa* y algunas enzimas hepáticas no comunes como la *5'-nucleotidasa*.

Ninguna enzima es clínicamente sensible, pero se consideran con buena especificidad, de tal manera que, si una actividad enzimática está dentro de rango normal, se puede descartar la posibilidad de un cáncer. Por el contrario, un valor elevado de la actividad enzimática es indicativo de la necesidad de complementar el diagnóstico con otros estudios.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	114 / 143

13.1 LIPASA SÉRICA (LPS) [EC 3.1.1.3]

MÉTODO CINÉTICO-COLORIMÉTRICO

Objetivos

- Determinar la actividad de lipasa en muestras de suero.
- Reconocer su papel en el diagnóstico y seguimiento del carcinoma pancreático.

Introducción

La *lipasa* (LPS) es una triacilglicerol hidrolasa. La determinación de su actividad enzimática ha sido conocida durante mucho tiempo como un método útil para el diagnóstico de procesos pancreáticos; debido a que no aumenta en respuesta a un número de condiciones tan elevado como la α -amilasa sérica, se considera más específica.

Se exhibe niveles elevados en el 50% de los pacientes con carcinoma de páncreas y aumenta tan rápidamente como la *amilasa*, pero permanece elevada durante un período de tiempo más prolongado (sobre todo en pancreatitis). Aumenta también con la administración de opiáceos y colinérgicos.

Desafortunadamente ha sido muy difícil medir la actividad de la enzima con exactitud y precisión y las técnicas abreviadas han demostrado no ser confiables desde el punto de vista analítico, por lo que ha habido dudas en cuanto a su uso en el diagnóstico.

Para entender la metodología es necesario comprender que la enzima actúa sólo en la interfase éster-agua, por lo que los sustratos de la LPS deben encontrarse en forma de emulsiones, lo que dificulta las metodologías.

Hay varios métodos para determinar su velocidad de acción enzimática. El método desarrollado por Vogel y Zieve y modificado por varios autores se basa en la reducción de la turbidez de una emulsión aceite-agua medida entre 340 y 400 nm, en la interfase, la LPS hidroliza las moléculas de triglicéridos. El punto crítico de la determinación es el sustrato empleado, su pureza, estabilidad y, por lo tanto, su reproducibilidad.

Por esos problemas analíticos, se ha desarrollado un método con un éster artificial cromático que al hidrolizarse produce un compuesto colorido medible espectrofotométricamente; siendo un método más reproducible que los que utilizan emulsiones como sustrato.

Fundamento:

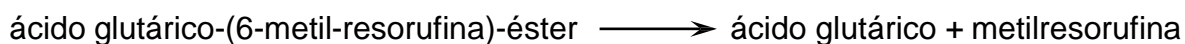
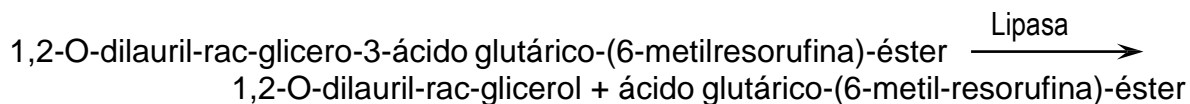
La lipasa cataliza la hidrólisis del sustrato cromático éster de 1,2-O-dilauril-rac-glicero-3-ácido glutárico-(6-metilresorufina) obteniéndose el éster 1,2-O-dilauril-rac-glicerol y el ácido glutárico-(6-metil-resorufina)-éster, un producto intermedio inestable. En solución alcalina, éste se descompone espontáneamente en ácido glutárico y metilresorufina, compuesto de color rojo que se mide a 570 nm. La



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	115 / 143

concentración catalítica se determina a partir de la velocidad de formación del colorante.

Reacción:



Reactivos: eestuche comercial para la determinación de la actividad enzimática de lipasa sérica por el método cinético colorimétrico.

Material biológico: suero o plasma heparinizado reciente.

Técnica

La especificada en el instructivo del equipo comercial existente. Seguir las instrucciones sin realizar modificaciones.

Cálculos: los indicados en el instructivo del estuche utilizado.

Factores de conversión: Multiplicar por el factor indicado para transaminasas para convertir de U/L a nkat/L.

Valores de referencia:

	Tradicional	SI
Suero	12 – 60 U/L	200 – 1000 nkat/L

Seminario: CARCINOMA PANCREÁTICO

Cuestionario

1. Defina: neoplasia, tumor, metástasis y metaplasia.
2. ¿Cuál es la probable etiología del cáncer pancreático?
3. ¿Cómo se encuentran la α -amilasa y la lipasa sérica en el carcinoma pancreático?
4. ¿Con qué pruebas se establece la diferencia entre el carcinoma pancreático y la pancreatitis aguda?
5. ¿Cuáles son los nuevos biomarcadores para el diagnóstico de carcinoma pancreático?



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	116 / 143

Bibliografía

- Herreros-Villanueva M, Bujanda L. Non-invasive biomarkers in pancreatic cancer diagnosis: what we need versus what we have. *Ann Transl Med* 2016; 4(7): 134. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.21037/atm.2016.03.44>
- Ilic M, Ilic I. Epidemiology of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 2016; 22(44): 9694-705.
- Martínez-Useros J, García-Foncillas J. Can molecular biomarkers change the paradigm of pancreatic cancer prognosis? *BioMed Res Int* 2016; 2016. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/4873089>
- Sarnecka AK, Zagozda M, Durlik M. An overview of genetic changes and risk of pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Cancer* 2016; 7(14): 2045-51.
- Swords DS, Firpo MA, Scaife CL, Mulvihill SJ. Biomarkers in pancreatic adenocarcinoma: current perspectives. *OncoTargets Ther* 2016; 9: 7459-67.
- Fierro-López R, Bolívar-Rodríguez MA, Cazares-Aguilar MA, Martínez-García JJ, Peraza-Garay FJ, González-Jaúregui CA. Incremento de la amilasa y lipasa en pacientes con dolor abdominal agudo de origen no pancreático y pancreático. *Rev Med UAS* 2012; 3(2): 52-5.
- Argüello-Arias PT. Cáncer de páncreas. Revisión de Tema. *Rev Col Gastroenterol* 2006; 21(3): 190-5.
- Freelove R, Wallings AA. Pancreatic cancer: diagnosis and management. *Am Fam Physician* 2006; 73: 485-492.
- Sabbagh LC. Cáncer de páncreas y lesiones quísticas pancreáticas. Nuevos avances en diagnóstico y tratamiento. *Rev Col Gastroenterol* 2006; 21(3): 147-8.
- Frullini L, Patrizi F, Bernadini L, Cavallini G. Pancreatic hyperenzynemia: clinical significance and diagnostic approach. *JOP J Páncreas (Online)* 2005; 6: 536-551.
- Fernández del Castillo C. Predicción de malignidad en neoplasias de páncreas endocrino. *Rev Inv Clin* 2005; 57: 481-487.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	117 / 143

13.2 FOSFATASAS

Objetivos

- Determinar la actividad enzimática de las fosfatasa en muestras biológicas.
- Interpretar la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina y la ácida como parte del diagnóstico de diferentes procesos malignos.

Introducción

Las fosfatasa son un grupo de enzimas de baja especificidad que se caracterizan por su capacidad para hidrolizar ésteres de fosfatos muy diversos con formación de alcohol y ion fosfato; principalmente monoésteres de ácido ortofosfórico.

Su función es la transferencia de grupos fosfato de un sustrato donador a un compuesto aceptor que contiene un grupo OH. Si el aceptor es agua, el efecto neto observado es hidrólisis.

Se reconocen dos tipos de fosfatasa perfectamente caracterizadas: la *fosfatasa alcalina* (ALP, EC 3.1.3.1) y la *fosfatasa ácida* (ACP, EC 3.1.3.2); que efectúan las mismas reacciones, pero a diferentes pHs, y se encuentran localizadas en diferentes órganos. Ambas enzimas tienen diferentes formas moleculares (isoenzimas), que son características de un órgano, por lo que para aclarar los diagnósticos es conveniente medir la actividad total y las isoenzimas específicas.

13.2.1 Fosfatasa Alcalina (ALP) [EC 3.1.3.1]

MÉTODO DE BESSEY-LOWRY-BROCK

Las fosfatasa alcalinas son un grupo de enzimas que actúan sobre ésteres alifáticos, aromáticos y heterocíclicos del ácido fosfórico. Su pH óptimo varía según el tipo de sustrato empleado y oscila entre 8.6-10.

Es una metaloenzima que contiene ácido siálico, y sus variantes moleculares se diferencian por el contenido de éste. Requiere de Mg^{2+} y Zn^{2+} para su estabilidad y máxima actividad.

Se conocen por lo menos 7 isoenzimas o formas moleculares que pueden estar en el suero y que tienen propiedades específicas en diferentes tejidos: intestinal, hepático, óseo, placentario y renal; por lo que aún hay incertidumbre en cuanto a la fuente dominante presente en el suero normal. Se desconocen los sustratos naturales sobre los cuales actúan en el cuerpo.

A temperatura ambiente la enzima mantiene su actividad durante 24 horas y en ocasiones se observa un aumento de 10% en su actividad. Si se guarda en refrigeración, la actividad desciende muy lentamente.

Debido a la gran cantidad de sustratos sobre los que actúa se tienen también una variedad de métodos, de los cuales, es empleado por excelencia el método de



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	118 / 143

Bessey-Lowry-Brock. En este método se propone el uso de p-nitrofenil fosfato como sustrato. Este éster es incoloro y puede seguirse la reacción por la aparición del color amarillo del ion p-nitrofenilato. De sus principales ventajas es que: no requiere desproteización y la reacción está en función lineal con el tiempo.

Este mismo método ha sido adoptado a equipos automatizados ya que se puede trabajar con volúmenes de suero de hasta 20 μL y hacer lecturas para la determinación en 1 o 2 min. Esta misma reacción se ha acoplado como reveladora de muchas técnicas inmunoenzimáticas (ELISA).

Fundamento:

Por acción de la enzima presente en el suero el p-nitrofenil-fosfato es escindido en fosfato y p-nitrofenol que en medio alcalino se convierte en ion p-nitrofenilato el cual asume una estructura quinoide de color amarillo. Así que se sigue el curso de la reacción a 405 nm.

Reacción:

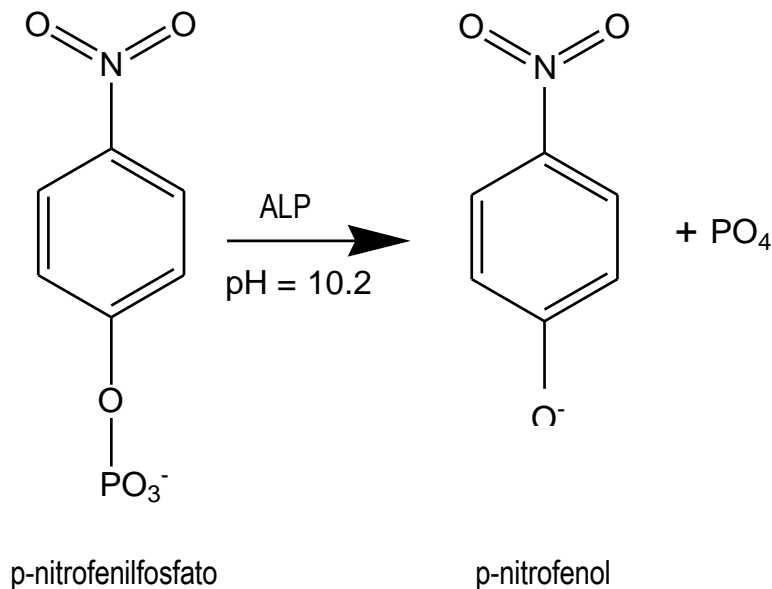


Figura 28. Reacción de determinación de la actividad de ALP por el método de Bessey-Lowry-Brock. Tomado de: Anderson, 1995.

Reactivos: estuche comercial para la determinación de ALP por el método de Bessey-Lowry-Brock.

Material biológico: suero reciente.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	119 / 143

Técnica

Es dependiente del estuche comercial disponible. Seguir las indicaciones del instructivo al pie de la letra.

Cálculos: los indicados en el inserto del estuche utilizado.

Factores de conversión: Los mismos que para transaminasas.

Valores de referencia:

	Tradicional	SI
Suero	15 – 69 U/L	230 – 1150 nkat/L

Seminario: OSTEOSARCOMA

Cuestionario

1. ¿Qué es un sarcoma y un adenoma? Indique su diferencia.
2. De acuerdo a la fisiología ósea, ¿la ALP qué tipo de marcador es?
3. ¿En qué padecimientos se encuentra elevada la actividad de esta enzima?
4. ¿Cuáles hallazgos de laboratorio son útiles para el diagnóstico y seguimiento del osteosarcoma?
5. ¿Qué es la hipofosfatasa y cuál es su importancia clínica?

Bibliografía

- Durfee RA, Mohammed M, Luu HH. Review of osteosarcoma and current management. Rheumatol Ther 2016; 3: 221-43.
- Millán JL, Whyte MP. Alkaline phosphatase and hypophosphatasia. Calcif Tissue Int 2016; 98: 398-416.
- Ren H-Y, Sun L-L, Li H-Y, Ye Z-M. Prognostic significance of serum alkaline phosphatase level in osteosarcoma: a meta-analysis of published data. BioMed Res Int 2015; 2015. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/160835>
- Ruiz-Bobadilla C. Osteosarcoma. Rev Med Cos Cen 2014; 71(611): 383-7.
- Uribe-Rosales DD, Carranza-Arellano C, Ramos-Moreno R. Aspectos biológicos y clínicos para comprender mejor el osteosarcoma. Inv Discapac 2014; 3(1): 33-40.
- Sánchez-Torres LJ, Santos-Hernández M. Osteosarcoma. Rev Mex Ortop Ped 2011; 13(1): 10-9.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE QUÍMICA CLÍNICA



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	120 / 143

- Álvarez-López A, García-Lorenzo Y, Puentes-Álvarez A, García-Lorenzo M. Osteosarcoma: enfoque actual. Arch Med Camagüey 2010; 14(5). Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=211116131016>.
- Cortés-Rodríguez R, Castañeda-Pichardo G, Tercero-Quintanilla G. Guía de diagnóstico y tratamiento para pacientes pediátricos con osteosarcoma. Arch Inv Mat Inf 2010; 2(2): 60-6.
- Briozzo G, Perego MC, Moirón MC. Comparación de dos métodos para determinación de fosfatasa alcalina en suero. Rev Hosp Mat Inf Ramón Sardá 2007; 26(4): 148-53.
- Fohr B, Dunstan CR, Seibel MJ. Clinical review 165. Markers of bone remodeling in metastatic bone disease. J Clin Endocrinol Metab 2003; 88: 5059-75.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	121 / 143

13.2.2 Fosfatasa Ácida (ACP) [3.1.3.2]

MÉTODO DE ANDERSCH-SZCZYPYNSKI

Se conocen como fosfatasas ácidas, a las fosfatasas con actividad óptima a un pH por debajo de 7, principalmente entre 4.8 y 6.0. El pH óptimo varía según la procedencia de la enzima y del sustrato empleado.

Las mayores concentraciones de estas enzimas se encuentran en hígado, bazo, leche, eritrocitos, plaquetas y glándula prostática. Esta última es la fuente más rica y contribuye en un tercio o la mitad de la enzima presente en el suero de varones normales.

Se han encontrado una gran cantidad de isoenzimas o formas moleculares, siendo las más importantes las prostáticas, que aunque actúan sobre los mismos sustratos y al mismo pH que las demás isoenzimas de otros órganos, se ve inhibida por diferentes compuestos químicos.

Los sustratos empleados para determinar su actividad son, por lo general, los mismo que para la ALP, sólo que a un pH ácido; de aquí que el método más frecuentemente empleado es una modificación al de Bessey-Lowry-Brock, llamado Andersch-Szczypynski en donde se lleva a cabo la medición de la hidrólisis de p-nitrofenilfosfato a pH = 4.9, en presencia o ausencia de tartrato de sodio 0.04 M, para observar la actividad de la ACP prostática y total, respectivamente.

Fundamento:

El sustrato p-nitrofenilfosfato es escindido por la enzima ACP en p-nitrofenol y ácido ortofosfórico. Añadiendo hidróxido de sodio se interrumpe la reacción y el p-nitrofenol formado es transformado en la forma quinoide (ion p-nitrofenilato) de color amarillo. La cantidad de p-nitrofenol es directamente proporcional a la actividad de fosfatasa.

Como la ACP prostática es inhibida por el L-tartrato, se lleva a cabo una reacción paralela añadiendo este compuesto. La diferencia de los resultados de la determinación con y sin tartrato da la actividad de la enzima prostática.

Reacción: la misma que para la *fosfatasa alcalina*, sólo que a pH ácido.

Reactivos: estuche comercial para la determinación de la actividad de la ACP por el método de Andersch-Szczypynski.

Material biológico: suero reciente, no hemolizado.

Técnica

La indicada en el inserto del estuche comercial disponible.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	122 / 143

Cálculos: los indicados en el instructivo del estuche empleado.

Factores de conversión: los mismos que para *fosfatasa alcalina*.

Valores de referencia:

	Tradicional	SI
Niños		
ACP total	7.8 – 21.2 U/L	130 – 252 nkat/L
Adultos		
ACP total	4.8 – 13.5 U/L	70 – 225 nkat/L
ACP prostática	Hasta 3.7 U/L	Hasta 61 nkat/L

Seminario: CARCINOMA PROSTÁTICO

Cuestionario

1. ¿Qué otros inhibidores químicos se pueden utilizar para determinar la actividad de la ACP prostática?
2. ¿Cuál es el papel de la ACP en la fisiología ósea y cuál es la isoenzima de utilidad diagnóstica en este caso?
3. ¿Qué es el antígeno prostático específico (PSA) y cuáles son los valores de corte clínico?
4. ¿Cuáles son los nuevos biomarcadores utilizados para el diagnóstico de cáncer prostático?
5. ¿Qué semejanzas bioquímicas existen entre el carcinoma prostático y el de mama?

Bibliografía

- Cabarkapa S, Perera M, McGrath S, Lawrentschuk N. Prostate cancer screening with prostate-specific antigen: A guide to the guidelines. *Prostate Int* 2016; 4: 125-9.
- Sharma P, Zargar-Shoshtari K, Pow-Sang JM. Biomarkers for prostate cancer: present challenges and future opportunities. *Future Sci OA* 2016; 2(1), FSO72. doi 10.4155/fso.15.72.
- Valiente-Morejón W, Junco-Sena B, Padrón-Vega Y, Ramos-Águila YC, Castillo-García I. Antígeno prostático específico como predictor del diagnóstico de adenocarcinoma prostático. *Rev Finlay* 2015; 5(4): 221-7.
- Jiménez-Romero ME, Caro-Gómez I. Biomarcadores en el cáncer de próstata. Implicación en la práctica clínica. *Rev Mex Urol* 2014; 74(4): 226-33.
- Kong HY, Byun J. Emerging roles of human prostatic acid phosphatase. *Biomol Ther* 2013; 21(1): 10-20.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE QUÍMICA CLÍNICA



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	123 / 143

- Guzmán-Esquivel J. Limitaciones del antígeno prostático específico. Rev Mex Urol 2009; 69(3): 87.
- Vázquez-Ortega L, Fernández-Carreño A, Cantellano-Orozco M, Camarena-Reynoso H, et al. Validez diagnóstica de la densidad del antígeno prostático en la detección de cáncer de próstata. Rev Mex Urol 2008; 68(4): 203-6.
- Martínez-Arroyo C. Salgueiro-Ergueta R, Paredes-Mendoza J, Marina-González JM, et al. Punto de corte de la fracción libre de antígeno prostático específico en la población mexicana susceptible de cáncer de próstata. Rev Mex Urol 2007; 67(5): 248-55.
- Yacoubi M. ¿Qué hay de nuevo sobre el PSA? En: Laboratorio y Clínica. Cuadernos de Farmacia de AEFA. Madrid: Asociación Española de Farmacéuticos Analistas. 2006. p. 28-36.
- Kantoff PW. Prostate Cancer. ACP Medicine 2005. Disponible en: URL: <http://www.medscape.com/viewarticle/499437>.
- Prando A. Baseline staging of newly diagnosed prostate cancer. A summary of literature. Int Braz Urol 2004; 30: 341-342.
- Thompson IM, Pauler DK, Goodman, PJ, Tangen CM, Lucia MS, Parnes HL, et al. Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level \leq 4.0 ng per milliliter. N Engl J Med 2004; 350: 2239-2246.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	124 / 143

14 ANÁLISIS DE LÍQUIDO SEMINAL

Objetivo

- Reconocer el papel del análisis del líquido seminal en el diagnóstico de infertilidad masculina.

Introducción

El semen es un líquido lechoso que contiene secreciones de la próstata, glándulas bulbouretrales o de Cowper y vesículas seminales; espermatozoides y algunos de sus precursores (espermatoцитos, células de Sertoli, etc.). Se acumula temporalmente en el ámpula de los conductos deferentes y de las vesículas seminales y su secreción es constante durante la edad viril.

Los espermatozoos se producen en el testículo a partir de las espermatogonias, estando la espermatogénesis y la espermiogénesis bajo la acción de la hormona folículo estimulante (FSH) de la hipófisis.

Se pueden realizar dos tipos de análisis de semen, espermatobioscopía o espermograma: directa o indirecta, funcional o Hühner. Es un estudio que aporta información sobre la espermatogénesis, la función de los espermatozoides y de las glándulas sexuales accesorias.

Es una de las pruebas básicas en el estudio de la pareja estéril y de enfermedades genitales masculinas. Cuando se trata del estudio de pareja, debe hacerse con mucha seriedad por las implicaciones psicológicas y sociales para la pareja en cuestión. En este caso se realizan tanto el estudio directo como el indirecto.

La espermatobioscopía directa, al igual que el examen de orina, se divide en tres partes: análisis físico, análisis químico y análisis microscópico; aunque el análisis químico no se realiza rutinariamente en los laboratorios clínicos.

Por cuestiones prácticas, únicamente se realizará la espermatobioscopía directa.

Reactivos:

- Solución de bicarbonato de sodio al 5% en formol al 1%.....(15)
- Equipo para tinción de Wright.

Material biológico: muestra de semen obtenida por masturbación previa abstinencia sexual mínima de 3 días.

*NOTA

- Después de obtenida la muestra, colocarla en un baño maría a 37°C, ahí debe mantenerse hasta terminado el análisis, éste debe hacerse dentro de las 2 h. siguientes.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	125 / 143

14.1 EXAMEN FÍSICO

Tiempo de licuefacción y color

Técnica

Observar la muestra a partir de los 20 minutos de obtenida hasta que se encuentre completamente licuada y anotar el tiempo transcurrido. A partir de que está licuada proceder a observar el color.

Volumen y viscosidad

Técnica

Medir con una pipeta graduada de 5 mL el volumen total de la muestra. Dejar caer libremente el líquido de la pipeta, observar la forma de caer e interpretar de acuerdo al cuadro 14.1.1.

Cuadro 14.1.1 Interpretación de la viscosidad de una muestra de líquido seminal.

Viscosidad	Apariencia
Normal	Goteo
Aumentada	Gotas muy gruesas y difícil salida del líquido
Disminuida	Chorro, no goteo, salida en hilo

pH

Técnica

Con una pipeta Pasteur colocar una gota de semen en un papel para medición del pH, de preferencia que sea un papel con escala de decimales. Comparar contra la carta de colores del frasco.

14.2 EXAMEN MICROSCÓPICO

Motilidad

Técnica

Colocar 10 μ L de semen entre porta y cubreobjetos de 20X20 mm. Observar al microscopio en el objetivo de seco fuerte (40X) la motilidad o no motilidad de los espermatozoides. Para llevar a cabo este examen debe observarse el grado de motilidad de los espermatozoides e interpretar como indica el cuadro 14.2.1. Contar 100 células y obtener la gama porcentual de cada tipo de motilidad espermática.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	126 / 143

Cuadro 14.2.1. Interpretación de la motilidad en una muestra espermática.

Observación	Calificación
Espermas con movimientos de traslación rápidos	++++
Espermas con movimientos de traslación moderados	+++
Espermas con movimiento lento	++
Espermas con movimiento <i>in situ</i>	+
Espermas inmóviles	Inmóviles

Cuenta espermática

Técnica

Medir en una pipeta de Thoma para leucocitos una muestra de semen hasta la marca de 0.5 y diluir con la solución de bicarbonato-formalina hasta la marca de 11 (1:20). Agitar bien la mezcla hasta que el moco se disuelva. Descartar las primeras cinco gotas de la pipeta y la siguiente colocarla en una cámara de Neubauer con cubrehematímetro y contar los espermas presentes en 5 cuadros medianos (80 cuadros pequeños) de la cámara central (cuadrícula para eritrocitos). Hacer esto mismo en la otra parte de la cámara de Neubauer. Obtener una media de los dos conteos y multiplicar el conteo final por 1,000,000 para obtener el número de espermatozoides/mL.

Morfología espermática

Esta parte del estudio espermático tiene por objeto determinar el porcentaje de las formas normales y establecer la fórmula cito-espermática llamada también cuenta diferencial espermática.

Este estudio puede realizarse tanto en fresco, si se cuenta con un microscopio de contraste de fases, como en frotis teñidos con colorantes selectivos, básicamente nucleares.

Técnica

Para el examen de frotis teñido se prepara éste colocando una gota de la muestra en uno de los extremos angostos del portaobjetos, y con el borde de otro portaobjetos, se extiende la muestra hacia el lado opuesto de la lámina en forma similar a la utilizada para hacer un frotis sanguíneo. Dejarlo secar y teñirlo por el método de Wright, previa fijación con metanol. Realizar una cuenta diferencial contando 200 espermas con el objetivo de inmersión (100X). Observar también la presencia de leucocitos, eritrocitos y/o células epiteliales. Obtener el porcentaje de todas las formas observadas y reportarlas.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	127 / 143

Determinar las formas normales y anormales, como son:

- Anormalidades cefálicas: distribución irregular de la cromatina nuclear y la fragmentación del núcleo, pérdida de los límites uniformes del perímetro cefálico, tamaño de la cabeza (gigantozoospermias, macro y microcefalozoospermias), número de cabezas (bicéfalos, policéfalos).
- Anormalidades cervicales: a nivel de cuello, como el alargamiento y acodamiento del esperma a este nivel, que puede llevar a la ruptura de este sitio dando origen a cabezas o colas libres.
- Anormalidades corporales: a nivel de la pieza intermedia donde puede haber deformaciones, hinchazón, irregularidades del contorno.
- Anormalidades caudales: son las alteraciones morfológicas de la cola como ausencia de cola, colas cortas, colas enrolladas, colas en espiral, bicaudales o policaudales.
- Formas jóvenes o inmaduras: se pueden observar espermátides y metaespermátides, y las que se manifiestan en la persistencia de citoplasma envolvente a nivel cefálico o de la pieza intermedia.
- Formas hiper maduras o envejecidas: se manifiestan como espermias negras detectados únicamente con microscopio de contraste de fases o bien por la presencia de gránulos adheridos a lo largo de la cola del espermatozoide.

Valores de referencia:

Determinación	Observación
Volumen	2.1 – 5.2 mL
Color	Blanco-grisáceo o blanco-amarillento
Aspecto	Translúcido-opalescente
Viscosidad	Equivalente a un goteo
pH	7.6 – 8.2
Tiempo de licuefacción	15 – 20 min.
Motilidad	> 78% entre 60 y 120 min.
No. espermias/mL	60 – 150 X 10 ⁶
No. Espermias/eyaculado	90 – 900 X 10 ⁶
Morfología espermática	Formas normales > 70% Formas inmaduras < 35%

Seminario: ANÁLISIS DE LÍQUIDO SEMINAL

Cuestionario

1. ¿Qué es: megalospermia, oligospermia, azospermia, teratozoospermia?
2. Explique, brevemente, como se realiza la prueba de vitalidad espermática.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	128 / 143

3. Realice un esquema de las diferentes formas de espermias que pueden observarse en una citología espermática.
4. ¿Qué pruebas especiales se le realizan a una muestra de líquido seminal?
5. ¿En qué patologías encontramos alterados al menos uno de los exámenes realizados al líquido seminal?

Bibliografía

- Bieniek JM, Drabovich AP, Lo KC. Seminal biomarkers for the evaluation of male infertility. *Asian J Androl* 2016; 18: 426-33.
- Talwar P, Hayatnagarkar S. Sperm function test. *J Hum Reprod Sci* 2015; 8(2): 61-9.
- Olsen J, Ramlau-Hansen CH. Epidemiologic methods for investigating male fecundity. *Asian J Androl* 2014; 16: 17-22.
- Romero-Valenzuela AC, Álvarez-Fuentes F. Estudio de parámetros seminales en pacientes que asisten por infertilidad a la clínica CIES-La Paz-Bolivia. *Rev Cient Cien Med* 2014; 17(2): 28-31.
- Cocuzza M, Alvarenga C, Pagani R. The epidemiology and etiology of azoospermia. *Clinics* 2013; 68(S1): 15-26.
- Jequier AM. Semen analysis: a new manual and its application to the understanding of semen and its pathology. *Asian J Androl* 2010; 12: 11-13.
- Samplaski MK, Agarwal A, Sharma R, Sabanegh E. New generation of diagnostic tests for infertility: Review of specialized semen tests. *Int J Urol*; 2010; 17: 839-47.
- Toro-Montoya AI. Espermograma. *Med Lab* 2009; 15: 145-69.
- Vázquez RF, Vázquez-Echeverri D. Espermograma y su utilidad clínica. *Salud Uninorte* 2007; 23(2): 220-30.
- Rothmann SA, Reese AA. Semen analysis: the test techs love to hate. *MLO* 2007; April: 18-27. Disponible en: <http://www.mlo-online.com>.
- Gonzales GF. Function of seminal vesicles and their role on male fertility. *Asian J Androl* 2001; 3: 251-8. Disponible en: <http://www.asiaandro.com/archive/1008-682X/3/251.htm>



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	129 / 143

15 ANÁLISIS DE LÍQUIDO CEFALORRAQUIDEO

Es el líquido presente en el interior de los cuatro ventrículos cerebrales, del espacio subaracnoideo y de la médula espinal. Sus funciones principales son de sostén mecánico, remoción de productos de deshecho, transporte de compuestos fisiológicamente activos y mantenimiento del medio químico, todo en el cerebro.

La composición iónica y molecular del líquido cefalorraquídeo (LCR) difiere de la del plasma en el caso de algunos componentes y es idéntica en el de otros.

Mucha patología del cerebro se acompaña de alteraciones en el LCR debido a modificaciones en la barrera hemato-encefálica, a la inducción de alteraciones inflamatorias, necrosis tisular o al pasaje de células tumorales.

El índice metabólico del cerebro es uno de los más elevados en el organismo humano, ya sea en estado de vigilia o durante el sueño, pero a diferencia de la mayoría de los otros órganos, los cuales almacenan y reservan un cierto aporte energético para su mantenimiento, el cerebro prácticamente no almacena recursos energéticos.

El LCR forma parte de lo que en el laboratorio clínico se denomina "líquidos biológicos", por lo que su análisis no difiere mucho, en cuanto a las pruebas, del análisis de cualquier otro líquido orgánico; más aún, es el análisis de este líquido el ejemplo a seguir para cualquier otro. En general, el examen se divide en 5 componentes:

- físico
- químico
- microscópico
- microbiológico
- inmunológico

Estos son los componentes de un análisis básico, pero no descarta la posibilidad de hacer otro tipo de pruebas especiales como ayuda a la confirmación de un diagnóstico.

Tradicionalmente el análisis del LCR era la prueba de elección para dilucidar el diagnóstico de las meningitis, pero en la actualidad se ha ampliado su uso a la medición de biomarcadores para el diagnóstico de padecimientos cerebrales no infecciosos y hasta de cáncer.

Debido a la complejidad en la toma de la muestra, es posible que el LCR extraído de un paciente esté contaminado con sangre, por lo que los valores de proteínas y leucocitos se ve modificados por la interferencia de esta contaminación, para ello existen fórmulas que nos permiten hacer correcciones y así obtener valores reales del LCR analizado.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	130 / 143

Corrección para Proteínas

$$Corrección = \left[\frac{(PsXHI)}{Hs} \right] 100$$

En donde: Ps = Proteínas en suero (g/dL)

HI = Eritrocitos en LCR

Hs = Eritrocitos en sangre

Corrección para Leucocitos

$$Corrección = \left[\frac{LsXHI}{Hs} \right] 100$$

En donde: Ls = Leucocitos en sangre periférica

HI = Eritrocitos en LCR

Hs = Eritrocitos en sangre

Técnica

Debido a que la muestra de LCR no es factible tenerla para hacer la medición, esta actividad será únicamente de seminario.

Valores de referencia:

Característica	Niños	Adultos
Volumen (mL)	Recién nacido 10 – 60	140 – 170
Aspecto	Cristalino, transparente	
Color	Incoloro	
Presión (mm Hg)	100 – 120	
Coagulabilidad	Negativa	
Leucocitos/mm ³	0 – 30	0 – 5
Proporción de células	Más monocitos	70% linfocitos 30% monocitos
Glucosa	50 – 60% menos que la sérica	
Proteínas (mg/dL)	15 – 45	
Bacterias	Negativo	

Seminario: ANÁLISIS DE LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	131 / 143

Cuestionario

1. ¿Cuáles son las propiedades y funciones del LCR en el organismo?
2. Describa como se realizan las diferentes tomas de muestra del LCR, mencionando los cuidados y precauciones que deben tenerse para efectuar cada una de ellas.
3. Mencione en qué casos se recomienda hacer un estudio de LCR.
4. Realice un cuadro sinóptico en donde muestre cómo se realiza el diagnóstico diferencial de las meningitis por medio del análisis del LCR.
5. ¿Qué pruebas especiales se le pueden realizar a un LCR?

Bibliografía

- Reiber H. Cerebrospinal fluid data compilation and knowledge-based interpretation of bacterial, viral, parasitic, oncological, chronic inflammatory and demyelinating diseases. Diagnostic patterns not to be missed in neurology and psychiatry. *Arq Neuropsiquiatr* 2016; 74(4): 337-50.
- Tormey WP, O'Hagan C. Cerebrospinal fluid protein and glucose examinations and tuberculosis: Will laboratory safety regulations force a change of practice? *Biochem Med* 2015; 25(3): 359-62.
- García-Ribas G, López-Sendón Moreno JL, García-Caldentey J. Biomarcadores en la enfermedad de Alzheimer. *Rev Neurol* 2014; 58: 308-17.
- dos Ramos Machado L, Livramento JA, Scaff-Vianna L. Cerebrospinal fluid analysis in infectious diseases of the nervous system: when to ask, what to ask, what to expect. *Arq Neuropsiquiatr* 2013; 71(9-B): 693-8.
- Echevarría-Pérez E, Rodríguez-González I, Fernández-Molina C. Valor práctico del líquido cefalorraquídeo en la hemaglutinación de *Treponema pallidum* para la confirmación de neurosífilis. *Rev Cub Med Trop* 2013; 65(2): 258-63.
- Moraes-Castro M, Camacho S, Margni C, Borbonet D. Utilidad del examen de líquido cefalorraquídeo y de la radiografía de huesos largos en neonatos asintomáticos con riesgo de sífilis connatal. *Arc Pediatr Urug* 2013; 84(3): 187-92.
- Iparraguirre-Góngora O, Álvarez-Pena MA, Alba-Pérez M, Piriz-Assa AR. Relación glucorraquia/glucemia y certeza del diagnóstico de meningoencefalitis viral y bacteriana en urgencias. *Rev Cub Med Int Emerg* 2009;8(2); 1495-504.
- Chalmers AH. Cerebrospinal fluid xanthochromia testing simplified. *Clin Chem* 2001; 47: 147-148.
- Biou D, Benoist JF, Huong CNX, Morel P, Marchand M. Cerebrospinal fluid protein concentrations in children: age-related values in patients without disorders of the central nervous system. *Clin Chem* 2000; 46: 399-403.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	132 / 143

ANÁLISIS DE HORMONAS

La transmisión de la información en el organismo es llevada a cabo por los sistemas nervioso y endocrino. En el sistema nervioso, el mensaje es transportado entre el tejido periférico y el cerebro mediante una red nerviosa especialmente construida; mientras que en el sistema endocrino, el mensaje es transportado desde una célula hacia otra mediante la corriente sanguínea a través de sustancias químicas denominadas hormonas.

Las partes del organismo encargadas de la secreción de hormonas son llamadas glándulas endocrinas; dentro de las cuales, las más importantes son la hipófisis anterior y el hipotálamo. Estas dos glándulas funcionan como reguladores primarios en su totalidad del sistema endocrino.

El estudio de las hormonas es denominado *análisis hormonal*, el cual puede realizarse de dos formas:

- midiendo la cantidad de hormona activa en suero o sus metabolitos en orina
- por medio de pruebas dinámicas para determinar su actividad

El análisis hormonal también se realiza por medio de perfiles, de acuerdo al eje funcional de cada grupo de hormonas, de esta forma tenemos:

- gonadal, tanto masculino como femenino
- ginecológico
- suprarrenal
- tiroideo
- hipotalámico

Cada perfil está conformado por diferentes hormonas que permiten verificar el funcionamiento de cada eje. De estos perfiles, los más comunes son el ginecológico y el tiroideo; siendo el tiroideo el más utilizado por los médicos de todas las especialidades y en todos los grupos de edad, desde neonatos hasta adultos mayores. Los otros perfiles son más específicos, por ello sólo se llevan a cabo en los laboratorios de hormonas y pruebas especiales.

Técnica

Por carecer del equipo para hacer la medición, esta actividad será únicamente de seminario.

Seminario: ANÁLISIS HORMONAL

Cuestionario

1. ¿Qué es una hormona y cuáles son sus características?
2. Realice un esquema que represente el mecanismo de acción de los diferentes tipos de hormonas.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	133 / 143

3. Mencione tres métodos diferentes para la cuantificación de hormonas y diga sus fundamentos.
4. Anote el nombre de diez hormonas clínicamente importantes, su lugar de secreción y su célula blanco
5. ¿Qué es el tamiz neonatal y qué hormonas incluye?

Bibliografía

- Moon J-Y, Choi MH, Kim J. Metabolic profiling of cholesterol and sex steroid hormones to monitor urological diseases. *Endocr Relat Cancer* 2016; 23: R455-67.
- Lozano-Álvarez EE, Lozada-Suárez CT, Millán-Morales T. Consideraciones sobre el uso de las hormonas tiroideas. *Correo Cientif Med* 2014; 18 (3): 1-4.
- Romero-Villarreal JB, Palacios-Saucedo GC, Ocaña-Hernández LA, Pompa-Garza M, et al. Valores de referencia de triyodotironina total (TT3), tiroxina libre (FT4) y tirotropina (TSH) obtenidos por quimioluminiscencia en niños menores de seis años del noreste de México. *Gac Med Mex* 2014;150(Suppl 2): 248-54.
- Castells E, González EC, Frómata A, Pérez PL, et al. Modified T4 UMELISA to 3 mm discs for a more rational use of dried blood newborn samples on filter paper. *Biotechnol Apl* 2013; 30: 137-41.
- Maidana P, Bruno OD, Mesch V. Medición de cortisol y sus fracciones. Una puesta al día. *Med (Buenos Aires)* 2013; 73: 579-84.
- Miranda-Pantoja C, Miranda-Pantoja CA, Quintana-Castellanos D. Intervalos de referencia para concentraciones séricas de T3 y T4. Estudio preliminar. *Rev Finlay [revista en Internet]*. 2013. Disponible en: <http://revfinlay.sld.cu/index.php/finlay/article/view/231>
- Rosner W, Hankinson SE, Sluss PM, Vesper HW, Wierman ME. Challenges to the measurement of estradiol: an Endocrine Society position statement. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98: 1376-87.
- Marrero-Rodríguez MT. Utilidad clínica de las pruebas hormonales e inmunológicas en la evaluación de las enfermedades del tiroides. *Rev Cubana Endocrinol* 2012; 23(3): 1-8. Disponible en: bvs.sld.cu/revistas/end/vol23_3_12/end10312.htm
- Cedillo-Carvallo B, Estrada-Gómez RA, Jonguitud-Díaz V, Parra-Ortega I. Factores que afectan algunas pruebas del tamiz neonatal. *Med Univer* 2007; 9(34): 3-6.
- Taylor NF. Urinary steroid profiling. *Methods Mol Biol* 2006; 324: 159-175.
- Pérez-Rivero JJ, Aguilar-Setién A, Villa-Godoy A, Serrano H. Relación entre estructura y función de receptores para hormonas esteroidales: Receptores estrogénicos. *Vet Mex* 2005; 36(4): 437-52.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE QUÍMICA CLÍNICA



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	134 / 143

- Martínez de Villarreal LE, Torres-Sepúlveda R, Ruiz-Herrera C, González-Alanis R, Villarreal-Pérez JZ. El tamiz neonatal. Detección oportuna de los errores innatos del metabolismo. Med Univer 2003; 5(18): 25-9.
- Mendoza-Morfín F, Montero-González P, Gutiérrez-Ávila C, Bravo-Rius LE, et al. Valores de referencia de hormonas tiroideas y tirotropina en niños y adolescentes sanos mediante dos métodos. Bol Hosp Infant Mex 1999; 56(7): 386-90.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	135 / 143

AUTOMATIZACIÓN EN QUÍMICA CLÍNICA

Un autoanalizador es un equipo, o más bien, una máquina capaz de realizar un gran número de determinaciones, exigiendo escasa atención por parte de los operadores. La automatización en Química Clínica es relativamente reciente, ya que data de 1957.

Hacia los años 60's, la Química Clínica, y principalmente hospitalaria, experimentó un profundo cambio, originando como consecuencia dos innovaciones simultáneas y relacionadas:

- la mecanización de las determinaciones
- la producción industrial de equipos de reactivos

Actualmente existen en el mercado muy diversos tipos de analizadores para Química Clínica y se clasifican de acuerdo a su funcionamiento como:

- completo o parcial
- seriado o paralelo
- discreto o de flujo continuo
- monocanal o multicanal

Estos aparatos, además, nos pueden medir la velocidad de una reacción, el punto final o una posición de equilibrio de la misma, o hacer los tres tipos de medidas.

Hoy por hoy, se utilizan mucho más frecuentemente los sistemas de flujo continuo, aunque también se han desarrollado sistemas discretos que utilizan la tecnología de la película seca o química seca.

Cuando estamos frente a un autoanalizador es importante considerar:

- a) No todos funcionan como sería de esperar al leer los impresos que los describen.
- b) Si no se posee experiencia directa sobre el sistema, es un buen índice para juzgarlo la aceptación que haya tenido por parte de otros consumidores.
- c) Hay sistemas con un porvenir aparentemente brillante que prácticamente desaparecen del mercado un año después.
- d) Es muy útil enfocar la discusión del sistema sobre los principios generales en que se basan la mayoría de ellos.

Estas consideraciones más la cantidad de análisis que se realizan por día en un laboratorio, son la guía para la adquisición de un equipo.

Aunque los equipos automatizados son rápidos y tienen la posibilidad de detener una corrida para introducir una muestra de urgencia, para obtener un resultado mucho más rápido en áreas de urgencia se diseñaron los instrumentos de respuesta rápida al lado del paciente (*point of care testing* [POCT]). El objetivo de este tipo de instrumentos es generar un resultado rápido para la implementación de un apropiado tratamiento. En ocasiones, de cualquier forma, se envía la muestra



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	136 / 143

sanguínea al laboratorio para corroborar, pero con esta respuesta rápida se inicia un tratamiento que después se puede rectificar o continuar.

Técnica

Por carecer del equipo para hacer la demostración, esta actividad será únicamente de seminario.

Seminario: AUTOMATIZACIÓN EN QUÍMICA CLÍNICA

Cuestionario

1. ¿Cuáles son las partes fundamentales de un autoanalizador en Química Clínica?
2. ¿Qué es el "arrastre" en un autoanalizador de Química Clínica?
3. ¿Cuál es la diferencia entre un analizador de flujo continuo y uno centrífugo?
4. En automatización ¿qué es el tiempo de retardo y el volumen muerto?
5. ¿Para qué pruebas de laboratorio se han diseñado equipos POCT?

Bibliografía

- Amundson B, Apple FS. Cardiac troponin assays: a review of quantitative point-of-care devices and their efficacy in the diagnosis of myocardial infarction. Clin Chem Lab Med 2015; 53(5): 665-76.
- Armbruster DA, Overcash DR, Reyes J. Clinical chemistry laboratory automation in the 21st century - Amat Victoria curam (Victory loves careful preparation). Clin Biochem Rev 2014; 35(3): 143-54.
- Felder R. Advances in clinical laboratory automation. Clin Lab News. Dec 1, 2014. Disponible en: <https://www.aacc.org/publications/cln/articles/2014/december/lab-automation.aspx>
- Theodorsson E, Magnusson B, Leito I. Bias in clinical chemistry. Bioanalysis 2014; 6(21): 2855-75.
- Rego A, Pérez H, López L, Carlos N. Sistema automatizado para la evaluación de la calidad en los laboratorios de diagnóstico con tecnología SUMA. VaccMonitor 2012; 21(1): 18-24.
- Kricka LJ, Imai K, Fortina P. Analytical ancestry: evolution of the array in analysis. Clin Chem 2010; 56(12): 1797-803.
- Díaz-Rivero M, Molina-García JR, Rivera-Michelena N. Entrenamiento en equipos automatizados de laboratorio clínico de los centros de alta tecnología en Venezuela. Educ Med Super 2009; 23(1): 1-7.
- Price CP. Point of care testing. BMJ 2001; 322: 1285-8.
- Middleton SR. Developing an automation concept that is right for your laboratory. Clin Chem 2000; 46: 757-63.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE QUÍMICA CLÍNICA



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	137 / 143

- Orsulak PJ. Stand-alone automated solutions can enhance laboratory operations. Clin Chem 2000; 46: 778-83.
- Seaberg RS, Stallone RO, Statland BE. The role of total laboratory automation in a consolidated laboratory network. Clin Chem 2000; 46: 751-6.
- Wing AK. Laboratory automation and optimization: the role of architecture. Clin Chem 2000; 46: 784-91.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE QUÍMICA CLÍNICA



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	138 / 143

A N E X O

PREPARACIÓN

DE

REACTIVOS



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	139 / 143

1. Solución Madre de Anaranjado de metilo (100 mg/dL):
 Anaranjado de metilo..... 100 mg
 Agua destilada cbp..... 100 mL
 Disolver en colorante en un matraz aforado de 100 mL con un poco de agua destilada. Aforar a 100 mL con el agua.

2. Solución de anaranjado de metilo, concentración 0.2 mg/dL:
 Solución madre de anaranjado de metilo..... 0.2 mL
 Agua destilada cbp 100.0 mL
 Colocar el colorante en un matraz aforado de 100 mL y diluir con el agua hasta el aforo.

3. Solución de anaranjado de metilo, concentración 0.4 mg/dL:
 Solución madre de anaranjado de metil..... 0.4 mL
 Agua destilada cbp 100.0 mL
 Colocar el colorante en un matraz aforado de 100 mL y diluir con el agua hasta el aforo.

4. Solución de anaranjado de metilo, concentración 0.6 mg/dL:
 Solución madre de anaranjado de metilo..... 0.6 mL
 Agua destilada cbp 100.0 mL
 Colocar el colorante en un matraz aforado de 100 mL y diluir con el agua hasta el aforo.

5. Solución de anaranjado de metilo, concentración 0.8 mg/dL:
 Solución madre de anaranjado de metilo..... 0.8 mL
 Agua destilada cbp 100.0 mL
 Colocar el colorante en un matraz aforado de 100 mL y diluir con el agua hasta el aforo.

6. Solución de anaranjado de metilo, concentración 1.0 mg/dL:
 Solución madre de anaranjado de metilo..... 1 mL
 Agua destilada cbp 100 mL
 Colocar el colorante en un matraz aforado de 100 mL y diluir con agua hasta el aforo.

7. Solución madre de rojo de cresol al 1% (p/v):
 Rojo de cresol 250 mg
 Etanol 96°..... 10 mL
 Agua destilada cbp 25 mL



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	140 / 143

Disolver el colorante en el etanol en un matraz aforado de 25 mL, aforar con el agua destilada. Conservar en frasco ámbar aislado de la luz.

8. Solución de rojo Congo 14 mg/L

Rojo Congo 7 mg

Agua destilada cbp 500 mL

Disolver el colorante en un poco de agua en un matraz aforado de 500 mL, aforar con el agua destilada. Conservar en frasco ambar aislado de la luz.

9. Solución de dicromato de potasio al 10% (p/v):

Dicromato de potasio..... 10 g

Ácido sulfúrico concentrado..... 1 mL

Agua destilada cbp 100 mL

Disolver el dicromato de potasio en un matraz aforado de 100 mL con un poco de agua y el ácido sulfúrico, llevar al aforo con el agua.

10. Solución de ácido sulfúrico 500 mmol/L

Ácido sulfúrico (90% de pureza y densidad de 1.84)..... 1.4 mL

Agua destilada cbp 100 mL

Colocar en un matraz aforado de 100 mL aproximadamente 50 mL de agua destilada y adicionar el ácido cuidadosamente, mezclar y aforar con agua destilada.

11. Solución de hidróxido de sodio 500 mmol/L

Hidróxido de sodio..... 2.0 g

Agua destilada..... 100 mL

En un matraz aforado de 100 mL colocar aproximadamente 50 mL de agua destilada y adicionar el hidróxido de sodio. Disolver auxiliándose de un baño frío y aforar con agua destilada.

12. Solución de ácido clorhídrico 5 N

Ácido clorhídrico concentrado 4.2 mL

Agua destilada cbp 10 mL

En un tubo de ensayo de 18X150 mm colocar 5 mL de agua destilada y adicionar lenta y cuidadosamente el ácido, homogeneizar. Agregar 5 mL más de agua con cuidado.

13. Solución de hidróxido de sodio 5 N

Hidróxido de sodio..... 2.0 g

Agua destilada..... 10 mL



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE QUÍMICA CLÍNICA



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	141 / 143

En un tubo de ensayo de 18X150 mm colocar 5 mL de agua destilada y adicionar el hidróxido de sodio. Disolver y agregar 5 mL más de agua destilada.

14. Solución de ácido sulfosalicílico al 3% p/v

Ácido sulfosalicílico 3.0 g

Agua destilada cbp 100 mL

Colocar un poco de agua destilada en un matraz aforado de 100 mL, agregar el ácido sulfosalicílico y disolver. Aforar con agua destilada.

15. Solución de bicarbonato de sodio al 5% (p/v) en formol al 1% (p/v): Bicarbonato de sodio 5 g

Formaldehído al 40% 1 mL

Agua destilada cbp 100 mL

En un matraz aforado de 100 mL, colocar un poco de agua y añadir el bicarbonato de sodio, disolver y agregar el formaldehído. Aforar con agua destilada.



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	142 / 143

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Farreras-Valentí P, Rozman C. Medicina interna. 18ª ed. Barcelona: Elsevier; 2016.
- Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins y Cotran: patología estructural y funcional. 9ª ed. Amsterdam: Elsevier; 2015.
- Moreno-Muñoz F. Anatomofisiología y patologías básicas. Jaén: Formación Alcalá; 2015.
- Brunzel NA. Fundamentos del análisis de orina y fluidos corporales. Colombia: Amolca; 2014.
- Gómez-Gutiérrez A, Casas-Gómez MC, Gómez-Tobón PE. Ángel. Interpretación clínica del laboratorio. 8ª ed. Bogotá: Médica Panamericana; 2014.
- Lieberman M, Marks AD, Peet A. Bioquímica médica básica: un enfoque clínico. Barcelona: Wolters Kluwer Health; 2013.
- Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J. Harrison: manual de medicina. 18ª ed. México: McGraw-Hill; 2013.
- Williamson MA, Snyder LM. Jacques Wallach. Interpretación clínica de pruebas diagnósticas. 9ª ed. Barcelona: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
- Prieto-Valtueña JM, Yuste-Ara JR. Balcells. La clínica y el laboratorio: interpretación de análisis y pruebas funcionales: exploración de los síndromes: cuadro biológico de las enfermedades. 21ª ed. Barcelona: Masson; 2010.
- Ruiz-Reyes G, Ruiz-Argüelles A. Fundamentos de interpretación clínica de los exámenes de laboratorio. 2ª ed. México: Médica Panamericana; 2010.
- Siegenthaler W, Aeschlimann A. Diagnóstico diferencial en medicina interna: de los síntomas al diagnóstico. México: Manual Moderno; 2009.
- Pagana KD, Pagana TJ. Guía de pruebas diagnósticas y de laboratorio. 8ª ed. Barcelona: Elsevier; 2008.
- Crocker J, Burnett D. La ciencia del diagnóstico de laboratorio [recurso electrónico]. México: McGraw Hill/Interamericana; 2007.
- Baynes JW, Dominiczak MH. Bioquímica médica 2ª ed. Madrid: Elsevier; 2006.
- Fernández-Castillo R, Fernández-Gallegos R. Laboratorio de diagnóstico clínico. Jaén: Formación de Alcalá; 2006.
- Farías-Martínez C. Gasometría: equilibrio ácido base en la clínica. 2ª ed. México: Manual Moderno; 2004.
- Fuentes-Arderiu X, Castiñeiras-Lacambra MJ, Ferré-Masferrer M. Codex del laboratorio clínico. Madrid: Elsevier; 2003.
- Christenson RH, Gregory LC, Johnson LJ. Appleton & Lauge's online review clinical chemistry. New York: Appleton & Lauge-McGrawHill; 2001.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS
LABORATORIOS DE DOCENCIA

MANUAL DE LABORATORIO DE QUÍMICA CLÍNICA



Código	Fecha de elaboración o revisión	Versión	Página
SGC-FESZ-QFB-ML31	19/04/2016	0	143 / 143

- Anderson SC, Cockayne S. Química clínica. México: Interamericana-McGraw-Hill; 1995.
- Bennington J. Diccionario enciclopédico del laboratorio clínico. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1991.
- Pesce A, Kaplan L. Química clínica: métodos. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1990.
- Henry J. Todd-Sanford-Davidsohn. Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio. 8ª Ed. [2 vol.] México: Salvat; 1988.
- Bauer J. Análisis clínicos: métodos e interpretación. 9ª Ed. México: Reverté; 1986.
- Kaplan L, Pesce A. Química clínica. Teoría, análisis y correlación. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1986.
- Iovine E, Selva A. El laboratorio en la clínica. Metodología analítica, fisiopatología e interpretación semiológica. 3ª Ed Buenos Aires: Médica Panamericana; 1985.