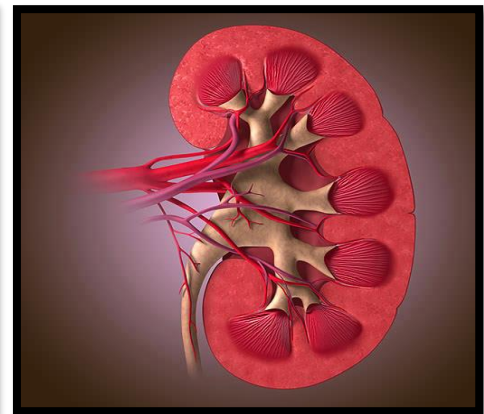




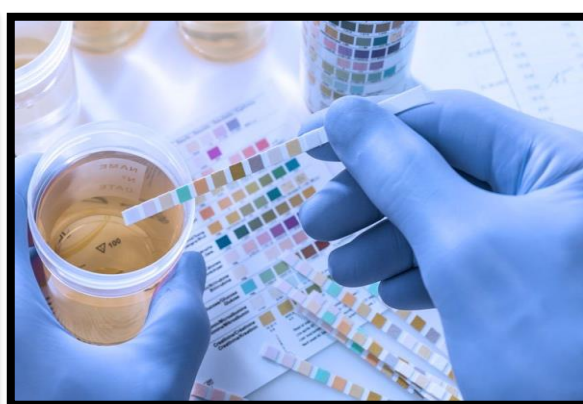
Guía de Practicas de Laboratorio de Bioquímica Clínica Elaborado por: MAC. María Azucena Mendoza Fernández, Dr. Eduardo Rivadeneyra Domínguez y Q.F.B. Isaac Zamora Bello.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA

Facultad de Química Farmacéutica
Biológica



GUÍA DE PRÁCTICAS DE LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA



ELABORARON:

M.A.C. María Azucena Mendoza Fernández

Dr. Eduardo Rivadeneyra Domínguez

Q.F.B. Isaac Zamora Bello.

PRESENTACIÓN

La presente Guía de Prácticas de Laboratorio de Bioquímica Clínica está diseñada de acuerdo al programa de teoría de Bioquímica Clínica que forma parte del área de formación a la disciplina del plan de estudios vigente de la Licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo de la Universidad Veracruzana Región Xalapa. Las prácticas de laboratorio propuestas en esta guía tienen el propósito de que los estudiantes desarrollen competencias en la ejecución e interpretación de pruebas básicas de laboratorio de Bioquímica Clínica. El contenido está diseñado para lograr su correlación con el curso teórico abarcando la metodología analítica tanto manual como semi-automatizada que da información para la prevención, el diagnóstico, el pronóstico y el tratamiento de las enfermedades. Durante el desarrollo del curso los estudiantes aprenden y ponen en práctica las medidas de bioseguridad, el manejo de residuos biológico-infecciosos y legislación del laboratorio clínico. La metodología promueve el desarrollo de habilidades de ejecución y de pensamiento que permitan al estudiante tener un buen desempeño en un laboratorio de Bioquímica Clínica; fomenta tanto el trabajo individual como colectivo. En la evaluación del aprendizaje se consideran la realización de prácticas, participación, entrega de reportes por escrito, así como exámenes teóricos y prácticos. Finalmente, es importante que el estudiante mantenga un registro completo de sus experimentos, por lo que los docentes que imparten esta experiencia educativa recomiendan el uso de una bitácora, cuyo objetivo es que el alumno conozca y aprenda la forma en que se realizó el desarrollo experimental, además en ella se deberán escribir los resultados, cálculos, conclusiones, etc. Este registro se hace al momento en que se realiza la práctica y debe estar escrito de manera clara para que cualquiera pueda entender cómo se realizó la práctica y cuáles fueron los resultados obtenidos.

JUSTIFICACIÓN

La Bioquímica Clínica es un campo multidisciplinario cuya finalidad es la aplicación de la Ciencia Química para contribuir a la resolución de problemas de salud. Los laboratorios clínicos representan un apoyo primordial para el área médica, ya que a través de los análisis realizados en ellos se pueden diagnosticar diferentes patologías y establecer el tipo de tratamiento que se debe administrar al paciente. Es por eso, que consciente de la gran importancia y con la finalidad de alcanzar un trabajo de calidad, es indispensable contar con una guía de prácticas de laboratorio que presente de manera formal y sistemática las metodologías para cada una de las determinaciones de laboratorio que se realizan de forma más frecuente en un laboratorio básico con características de ser un laboratorio de enseñanza.

La siguiente guía se ha elaborado de forma sencilla y práctica para que su contenido sea de fácil aplicación por los estudiantes que cursan el laboratorio de Bioquímica Clínica en cualquier carrera afín a esta área. Contiene las metodologías más actuales y el desarrollo de fundamento, técnica y aplicaciones más frecuentes. Su contenido está dividido en unidades, y a su vez éstas están divididas en prácticas unitarias. El curso de la asignatura práctica de Bioquímica Clínica hace énfasis en el control de calidad. Las prácticas están diseñadas con el propósito que los alumnos dispongan de un conjunto de habilidades que les permitan la aplicación flexible de las técnicas manuales y además utilicen equipos semiautomatizados como automatizados, los residuos biológico infecciosos se tratan internamente en el laboratorio de acuerdo a la NOM-087- ECOL- SSA1-2002. Al final se encuentra un apéndice con los cuestionarios de cada práctica, mismos que se entregan al inicio de cada sesión.

Esta misma guía también pretende que el estudiante adquiera el conocimiento, las habilidades y destrezas necesarias para realizar un trabajo adecuado e insertarse como químico en el campo laboral del área clínica, cuando egrese como profesionista de esta casa de estudios.

INTRODUCCIÓN

La Bioquímica Clínica es la rama de la medicina que se ocupa del estudio de los aspectos bioquímicos de la vida humana en la salud y en la enfermedad, y de la aplicación de los métodos bioquímicos de laboratorio para el diagnóstico, control del tratamiento, prevención e investigación de los procesos patológicos. La bioquímica clínica es fundamental para la práctica de la medicina, debido a que muchas enfermedades tienen una base bioquímica que explica los fenómenos patológicos a nivel molecular. La aplicación de los principios de esta ciencia en el análisis de líquidos y tejidos ha servido desde hace varias décadas como una ayuda valiosa para los médicos en el diagnóstico y pronóstico, así como en el seguimiento de la evolución de una enfermedad. El plan de estudios de la carrera de Químico Farmacéutico Biólogo de la Universidad Veracruzana, contempla la experiencia educativa Bioquímica Clínica dentro del área disciplinar, ya que impacta seriamente en muchas EE del área de la biomedicina, la farmacia, los alimentos y en la investigación. Es de suma trascendencia estar a la vanguardia de los principales avances científicos y tecnológicos que tienen lugar en las diversas disciplinas que conforman las carreras profesionales, además de la incorporación de contenidos actualizados y de nuevos desarrollos en investigación. Debido a que en el área de la Bioquímica Clínica se generan constantemente nuevos conocimientos que impactan tanto la teoría como la práctica de esta disciplina, es importante que los programas de estudios estén constantemente en revisión y actualización así como los materiales didácticos utilizados para la impartición de EE como lo son las guías de laboratorio.

Por esta razón, es indispensable actualizar los conocimientos que fundamentan dicha asignatura, además de buscar una mejora en el proceso enseñanza- aprendizaje y en la vinculación teórico-práctica, así la guía de prácticas es un apoyo para facilitar el aprendizaje teórico-práctico de los estudiantes sustentado en una revisión bibliográfica actualizada y apoyada con estructuras químicas, tablas, dibujos y esquemas novedosos que ayuden a hacer más didáctica la presentación del mismo. Estos materiales proporcionarán a los estudiantes los conocimientos y fundamentos para la realización de técnicas de laboratorio que son utilizadas actualmente, tanto en investigación como en el campo laboral, lo que a futuro se espera repercutirá en un mejor desempeño profesional de nuestros egresados. Las facultades que se beneficiaran con esta guía de prácticas serán desde luego la misma Facultad de Química Farmacéutica Biológica y estarán accesibles para todas aquellas relacionadas con la Bioquímica Clínica como Bioanálisis, Medicina, Biología y Nutrición, principalmente.

LOS OBJETIVOS DEL CURSO SON:

1. Que el estudiante sea capaz de realizar el análisis de productos biológicos incluyendo una adecuada manipulación de los especímenes, desde la toma y/o recepción de muestras hasta la entrega de resultados.
2. Que el estudiante adquiera una formación y preparación en Bioquímica Clínica que le permita afrontar los retos que encontrará en su vida profesional, ante el creciente número de técnicas que continuamente se están desarrollando para la detección y cuantificación de metabolitos de interés en la medicina moderna.
3. Que el estudiante realice los procedimientos correctos tanto en forma manual como automatizada utilizando un equipo mecanizado.
4. Que el estudiante adquiera los elementos formativos que le permitan desarrollar una actitud y pensamientos críticos, y adquiera la capacidad de tomar decisiones adecuadas en el trabajo.

MEDIDAS DE SEGURIDAD Y SALUD OCUPACIONAL

Los estudiantes...

- 1) Deben entrar siempre con bata blanca larga y limpia al laboratorio.
- 2) Deben guardar sus objetos personales en las gavetas que se encuentran en el espacio físico del laboratorio, nunca las deberá colocar en las mesas de trabajo.
- 3) Para el sexo femenino: presentar uñas cortas sin pintar, cabello recogido, no usar máscara para pestañas, no usar pintura para labios, no usar zapatos muy altos o con cierto grado de peligrosidad, vestir correctamente y no deberá portar ningún objeto de metal incrustado en la cara o boca.
- 4) Para el sexo masculino: presentar uñas cortas, cabello corto o recogido, no usar gorra, no deberá portar ningún artefacto de metal incrustado en la cara o boca.
- 5) No debe comer ningún alimento dentro del espacio físico del laboratorio, acostumbrándose además a no llevarse ningún objeto a la boca.
- 6) Esta estrictamente prohibido fumar.
- 7) Debe limpiar siempre su área de trabajo al inicio y término de su actividad en el laboratorio.
- 8) Debe limpiar siempre el equipo de trabajo al inicio y término de su actividad en el laboratorio.
- 9) Depositar todos los materiales infecto-contagiosos o punzo-cortantes en los depósitos destinados para ellos.
- 10) Verificar siempre que las llaves de gas y agua estén perfectamente cerrados si no los está usando.
- 11) Portar todo el material del laboratorio de Bioquímica Clínica en un estuche especial.
- 12) Lavar perfectamente sus manos antes de salir del laboratorio.
- 13) Conservar las notas tomadas durante la realización de la práctica en una libreta de bitácora especial para este uso.

Nombre del estudiante _____

Firma de enterado _____

INDICE

CONTENIDO	PAGINA
PRESENTACIÓN	2
JUSTIFICACIÓN	3
INTRODUCCIÓN	4
OBJETIVOS	5
MEDIDAS DE SEGURIDAD Y SALUD OCUPACIONAL	6
UNIDAD I CONTROL DE CALIDAD	10
PRÁCTICA 1 CONTROL DE CALIDAD EN EL LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA	10
UNIDAD II LEGISLACIÓN DE LABORATORIO CLÍNICO	28
PRÁCTICA 2 LEGISLACIÓN DE LABORATORIO CLÍNICO	28
UNIDAD III DIAGNÓSTICO DE ALTERACIONES EN LA GLUCOSA SANGUÍNEA	29
PRÁCTICA 3 DETERMINACIÓN DE GLUCOSA SANGUÍNEA	29
PRÁCTICA 4 PRUEBA DETOLERANCIA A LA GLUCOSA	33
PRÁCTICA 5 GLUCOSA POSPRANDIAL	37
UNIDAD IV VALORACIÓN DE LA FUNCIÓN RENAL	40
PRÁCTICA 6 ÀCIDO ÚRICO -MÉTODO URICASA	41
PRÁCTICA 7 CREATININA MÉTODO JAFFE	43
PRÁCTICA 8 UREA MÉTODO –UREASA	45
PRÁCTICA 9 QUÍMICA SANGUÍNEA	47
UNIDAD V ESTUDIO DE LOS LÍPIDOS Y DISLIPOPROTEINEMIAS	48
PRÁCTICA 10 PROTEÍNAS TOTALES MÉTODO BIURET	48
PRÁCTICA 11 ALBÚMINA MÉTODO VERDE DE BROMOCRESOL	51
UNIDAD DE VI ESTUDIO DE LOS LÍPIDOS Y DISLIPOPROTEINEMIAS	52
PRÁCTICA 12 COLESTEROL TOTAL MÉTODO CHOD- PAP	54
PRÁCTICA 13 COLESTEROL LDL Y HDL	55
PRÁCTICA 14 TRIGLICERIDOS MÉTODO CINETICO	59
PRÁCTICA 15 LIPIDOGRAMA ELECTROFORETICO	62
PRÁCTICA 15 LIPIDOGRAMA ELECTROFORETICO	64
UNIDAD VII ANÁLISIS DE ELECTROLITOS SÉRICOS	66
PRÁCTICA 16 DETERMINACIÓN DE CLORUROS	67
PRÁCTICA 17 DETERMINACIÓN FOSFATO	69
PRÁCTICA 18 DETERMINACIÓN CALCIO	71
PRÁCTICA 19 DETERMINACIÓN MAGNESIO	73
PRÁCTICA 20 DETERMINACIÓN SODIO	75
PRÁCTICA 21 DETERMINACIÓN POTASIO	77
UNIDAD VIII VALORACIÓN DE FUNCIÓN RENAL Y VÍAS URINARIAS	79
PRÁCTICA 22 EXÁMEN GENERAL DE ORINA (EGO)	79
PRÁCTICA 23 DEPURACIÓN DE CREATININA	95

UNIDAD IX PRUEBAS DE FUNCIÓN HEPÁTICA Y VÍAS BILIARES	100
PRÁCTICA 24 BILIRRUBINA TOTAL, DIRECTA E INDIRECTA	103
PERFIL ENZIMÁTICO HEPATOBILIAR	107
PRÁCTICA 25 FOSFATASA ALCALINA	110
PRÁCTICA 26 GAMMA GLUTAMIL TRANSFERASA	113
PRÁCTICA 27 ASAT Y ALAT	115
PRÁCTICA 28 OTROS COMPUESTOS ANALIZADOS EN EL PERFIL HEPÁTICO	118
ENZIMOLOGÍA CLÍNICA	123
UNIDAD X PERFIL PANCREÁTICO	123
PRÁCTICA 29 ALFA AMILASA	125
PRÁCTICA 30 LIPASA	128
UNIDAD XI PERFIL CARDÍACO	130
PRÁCTICA 31 CREATINFOSFOQUINASA (CK)	135
PRÁCTICA 32 ASPARTATO AMINOTRANSFERASA	138
PRÁCTICA 33 DESHIDROGENASA LÁCTICA	138
PRÁCTICA 34 TROPONINA CARDÍACA	138
PRÁCTICA 35 CK-MB	138
UNIDAD XII ANÁLISIS BIOQUÍMICO DE LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO	139
PRÁCTICA 36 LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO	139
UNIDAD XIII ANÁLISIS LÍQUIDO SEMINAL	144
PRÁCTICA 37 ESPERMATOBIOSCOPIA DIRECTA	144
APÉNDICE A CUESTIONARIOS	149
BIBLIOGRAFÍA	156

ANEXOS

01	NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-166-SSA1-1997, PARA LA ORGANIZACIÓN Y FUNCIONAMIENTO DE LOS LABORATORIOS CLÍNICOS.	162
02	NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-087-ECOL-SSA1-2002, PROTECCIÓN AMBIENTAL - SALUD AMBIENTAL - RESIDUOS PELIGROSOS BIOLÓGICO-INFECCIOSOS - CLASIFICACIÓN Y ESPECIFICACIONES DE MANEJO.	172
03	PLAN DE MANEJO DE RESIDUOS PELIGROSOS	186
04	FLEBOTOMÍA	207
05	INSERTOS	213

EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO:

Evidencia (s) de desempeño	Criterios de desempeño	Ámbito(s) de aplicación	Porcentaje
Realización de trabajo práctico.	Eficiencia, limpieza, seguridad, fluidez, orden.	Laboratorio	30
Discusiones grupales	Suficiencia, pertinencia, coherencia, fluidez, claridad.	Laboratorio	20
Reportes de las prácticas.	Suficiencia, pertinencia, coherencia, oportunidad, veracidad, claridad.	Laboratorio	20
Exámenes teóricos de preguntas abiertas y de opción múltiple.	Suficiencia, pertinencia, coherencia, claridad.	Laboratorio	30

Acreditación

El porcentaje total obtenido en la evaluación sumativa dividido entre 10 corresponde a la calificación del alumno, por lo que el mínimo para acreditar la materia será de 60 % y corresponde una calificación de seis.

La calificación final de la experiencia educativa incluirá el desempeño del alumno tanto en el curso teórico como en el laboratorio de acuerdo a los siguientes porcentajes:

Teoría 60 %

Laboratorio 40 %

Siendo requisito indispensable obtener calificación aprobatoria en ambos.

CONTROL DE CALIDAD

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

PRÁCTICA N0. 1

“CONTROL DE CALIDAD EN EL LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA”

DURACION: 02 HR

INTRODUCCIÓN

Los nuevos métodos analíticos se desarrollan con el fin de mejorar la exactitud y la precisión de los métodos existentes, también tiene el propósito de permitir el manejo de equipo automatizado, para reducir los costos de los reactivos o de la mano de obra, o para medir un compuesto nuevo. En cualquier caso, se debe verificar experimentalmente el rendimiento analítico en el laboratorio clínico mismo, aun si se cree que el método nuevo es una mejora con respecto a los métodos anteriores. La extensión de los experimentos y la interpretación de los datos van a depender del propósito de la evaluación y de quien la realiza, pero el fundamento básico y el diseño experimental son similares en todas las evaluaciones.

EVALUACIÓN DE MÉTODOS

En México las metas de calidad las rige el Reglamento de Ley General de Salud, que indica en su artículo 158 –los laboratorios deberán emplear reactivos y medios de cultivo ... de la más alta calidad y se cuenta con organismos que acreditan la competencia técnica, como la Entidad Mexicana de Acreditación (EMA). La decisión de aceptar o rechazar un método posible para el laboratorio se debe basar en la capacidad del método para cumplir con los requisitos del usuario final, el médico, que por otra parte que es quien usa los resultados de la prueba del laboratorio.

Características del método

El paso siguiente en el proceso de selección, es la definición de las características metodológicas ideales que permitirán que el método seleccionado tenga buena probabilidad de éxito en el laboratorio. Estas características incluyen la metodología preferida, que tendrá potencialmente la especificidad química necesaria (libre de interferencias) y sensibilidad química (capacidad de detectar cantidades pequeñas o pequeños cambios en la concentración del compuesto analizado). También es importante la capacidad de usar estándares acuosos para calibrar. La elección de reactivos, temperatura, tiempo de reacción, tiempo de medición y tipo de medición (como métodos de determinación de un punto, dos puntos o cinéticos), son características de un método que deben definirse. La IFCC abreviatura de *Internacional of Federation Clinical Chemistry and*

laboratory *Medicine* y AACC *asociación Americana de Química Clínica* han desarrollado una serie de recomendaciones para los métodos empleados en química clínica, la familiaridad del operador con el procedimiento del método; la estabilidad de los calibradores, controles y reactivos; y la linealidad de la respuesta a través de todo el intervalo de trabajo.

Error aleatorio y error sistemático

Por lo general, los errores que afectan el rendimiento de los procedimientos analíticos se clasifican en aleatorios o sistemáticos. Los factores que contribuyen al error aleatorio, son los que afectan la reproducibilidad de la medición. Entre estos se incluyen: (1) la inestabilidad del instrumento, (2) variaciones en la temperatura, (3) variaciones en los reactivos y calibradores (y la estabilidad de la curva de calibración), (4) variabilidad en las técnicas de manejo como el pipeteo, mezcla y control de los tiempos y (5) variabilidad en los operadores. Estos factores sobrepone sus efectos entre sí a diferentes tiempos. Algunos producen fluctuaciones muy rápidas y, otros, ocurre en períodos más largos de tiempo. Por consiguiente, el error aleatorio (RE) tiene componentes diferentes de variación que están relacionados con la disposición actual del laboratorio. El componente de variación *dentro de una corrida* es causado por etapas específicas en el proceso, tales como la precisión en el pipeteo y variaciones a corto plazo de la temperatura y la estabilidad del instrumento. La variación intradiaria *entre corridas* es causada por la inestabilidad de la curva de calibración o por diferencias en recalibración que ocurren a través del día, variaciones a más largo plazo en el instrumento, cambios pequeños en las condiciones del laboratorio durante el día y la fatiga del personal del laboratorio. El componente *intradionario* de variación es causado por variaciones en el instrumento que ocurren a través de los días, cambios en los calibradores y reactivos (especialmente sí se abren frascos nuevos cada día) y cambios en el personal de día a día. Aunque no es un componente aleatorio real de variación, cualquier variación en la curva de calibración a través del tiempo también afectará de manera considerable el componente intradiario de variación. Estos componentes se pueden combinar de tal manera que se puede obtener un cálculo de la varianza total del método.

Entre los términos usados para indicar el error aleatorio se incluyen *precisión, imprecisión, reproducibilidad y repetibilidad*. En cada uno de los casos se refieren a la dispersión aleatoria de los resultados de las mediciones alrededor de algún punto de tendencia central. El error sistemático (ES) describe el error que es consistentemente alto o bajo. Si el error es consistentemente bajo o alto en la misma cantidad, independientemente de la concentración se designa como error sistemático *constante*. Si el error es consistentemente bajo o alto en una

cantidad proporcional a la concentración del compuesto analizado, se conoce como error sistemático *proporcional*.

Los factores que contribuyen al error sistemático constante son independientes de la concentración del compuesto analizado, y la magnitud del error es constante a través de todo el intervalo de la concentración del compuesto analizado. El error sistemático constante es causado por una sustancia interferente presente en las muestras o los reactivos, provocando una señal falsa. El error puede ser positivo o negativo. Una reacción entre una sustancia interferente y los reactivos causada por una falta de especificidad es un ejemplo de error sistemático constante.

Otra causa de un error sistemático es una sustancia interferente en la reacción entre el compuesto analizado y los reactivos. Se observa este tipo de error en los métodos enzimáticos que usan reacciones acopladas oxidasa-peroxidasa en las cuales el peróxido de hidrógeno formado es destruido por agentes reductores endógenos, tales como el ácido ascórbico. Las sustancias interferentes también pueden inhibir o destruir el reactivo de modo que queda en cantidad mayor para reaccionar con el compuesto analizado. Una fuente no química de error sistemático constante es el error causado por el uso de blancos inapropiados de la muestra o los reactivos. La causa más frecuente de error proporcional es la asignación incorrecta de la cantidad de sustancia en el calibrador. Si el calibrador tiene más compuesto analizado que la indicada en el rótulo, todas las determinaciones desconocidas darán bajas; una menor cantidad del compuesto que el rotulado provocará un error positivo. El error será proporcional al error de calibración original. El error proporcional también puede ser causado por una reacción secundaria del compuesto analizado. El porcentaje de la sustancia a determinar que participa en la reacción secundaria, será el porcentaje de error en el método.

El límite de cuantificación (LQ) que es el valor mínimo de la magnitud que puede estimarse con una imprecisión aceptada (habitualmente el 10%) (IUPAC). EL límite de detección (LD) que es el valor mínimo de la magnitud para el cual la probabilidad de que el valor estimado no exceda al valor crítico es β (habitualmente 0.05). El valor crítico (L_c) que es el valor mínimo de la estimación de una magnitud para el cual la probabilidad de que el valor verdadero de la magnitud sea cero es α (habitualmente 0.05). En el laboratorio clínico, los interferentes más frecuentes son hemólisis, lipemia e ictericia. Para todos los métodos espectrofotométricos se debe determinar los efectos de hemólisis, ictericia y lipemia. También se deben ensayar otras sustancias que hayan sido reportadas como interferentes para métodos similares.

El pipeteo debe ser preciso, para que las muestras de línea de base y las que contienen el interferente reflejen el mismo grado de dilución y exactas con el fin de añadir una cantidad conocida de sustancia interferente. Nuevamente, resulta importante que la concentración del compuesto analizado en la muestra esté cercana a los niveles de decisión médica.

Dilución.

La dilución de una muestra que contiene interferentes espectrales puede algunas veces reducir el problema. Se debe ser cuidadoso en no diluir en exceso el compuesto deseado o el cromógeno a una concentración por debajo del nivel mínimo detectable para ese ensayo. Muchas diluciones deben ser analizadas simultáneamente para determinar la dilución más efectiva. Aunque una solución muy práctica y efectiva es realizar un blanco de problema. Este consiste en poner la muestra a analizar en el líquido diluyente y restarla al tubo de desarrollo de color.

Interferencias químicas

Todas las interferencias que se discutieron hasta ahora han sido interferencias espectrales causadas por compuestos que no participan en la reacción química analítica. Sin embargo, muchas interferencias reaccionan con las sustancias analizadas. Los productos de reacción de estas interferencias generalmente provocan interferencias positivas, aunque se han observado interferencias negativas. Los tipos de interferentes reactivos químicamente, no específicos pueden variar ampliamente,. El ácido úrico produce una interferencia positiva, y la bilirrubina y el ácido ascórbico producen interferencias negativas en los métodos de glucosa oxidasa usados para medir la glucosa. La reacción de picrato alcalino para la medición de creatinina presentan ambas interferencias positivas (cetonas, proteínas) y negativas (bilirrubina).

Corrección de las interferencias químicas

La eliminación de muchos de los interferentes químicos no específicos se logra frecuentemente por medio de una o más de las siguientes técnicas:

- 1) Diluyendo el interferente.
- 2) Aumentando la especificidad de la reacción.
- 3) Removiendo el interferente.
- 4) Monitoreando un ensayo por medición cinética.
- 5) Monitoreando un ensayo por medición bicromática.

La dilución de la muestra es un método efectivo en los casos de los interferentes que no reaccionan a la misma velocidad o producen la misma intensidad de color que el compuesto analizado. La interferencia por proteínas se minimiza en muchos analizadores automatizados por una dilución grande de la muestra.

El aumento de especificidad de una reacción analítica es a menudo lograda por el uso de enzimas específicas como reactivos. Los ejemplos de este método incluyen: la medición de glucosa por hexocinasa o glucosa oxidasa, ácido úrico por uricasa, y urea por ureasa. Las reacciones con base inmunoquímica son también usadas para aumentar la especificidad del análisis. Un ejemplo sería la medida de teofilina por inmunoensayo enzimático comparado con otros métodos, los cuales emplean absorbancia ultravioleta. La separación de un interferente del compuesto analizado puede lograrse por el uso de: una muestra libre de proteínas, extracción líquido- líquido, o cromatografía de adsorción o partición. Las muestras libres de proteínas fueron originalmente preparadas por precipitación de las proteínas del suero y separación de la muestra libre de proteínas por filtración o centrifugación.

Los métodos de laboratorio logran confiabilidad diagnóstica una vez realizados los protocolos de validación clínica, a través de emplear grupo de pacientes en quienes se conoce la presencia o ausencia de niveles –normalesl de lo que cuantifica el método.

2. INFORMACIÓN SOBRE EL CONTROL DE CALIDAD EN EL LABORATORIO CLÍNICO.

El laboratorio clínico es un servicio médico indispensable, cuya importancia ha ido creciendo y desarrollándose a lo largo de los años hasta ocupar un lugar central en la medicina. La meta fundamental de los laboratorios clínicos es proporcionar datos confiables acerca de la composición de muestras obtenidas de pacientes, de tal forma que puedan contribuir al diagnóstico, tratamiento y seguimiento de diversas enfermedades. La obtención de datos verdaderamente confiables, requiere de la rigurosa aplicación de diferentes técnicas de control de calidad, teniendo siempre presente que el mejor sistema de control es el que permite prevenir, identificar y corregir los errores. Cuando no se dedica la atención suficiente a la calidad, se pueden presentar deficiencias serias.

Un laboratorio clínico debe tener como uno de sus propósitos principales, la producción de datos

analíticos de alta calidad por medio del uso de mediciones analíticas que sean precisas, exactas y adecuadas para tal fin; conduciendo esto a resultados confiables. Para concretar este propósito se hace necesario la utilización de programas de control de calidad interno y externo, entre otros elementos, se debe recordar que se puede tener buena o mala calidad en todo tipo de sistemas analíticos ya sean éstos manuales o automatizados, por lo que se debe tener mucho cuidado en ambos casos. La meta de un sistema de control de calidad deberá ser que: —La variación en las determinaciones que se llevan a cabo en el laboratorio sea lo suficientemente pequeña para que no se afecte la utilidad.

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

ETAPA PREANALÍTICA

Las pruebas de laboratorio que miden un compuesto analizado en un espécimen de sangre u otro fluido corporal, son solicitadas por los médicos para evaluar el estado del paciente. Se asume que el resultado analítico obtenido es representativo de la concentración real del compuesto analizado en el paciente. Desafortunadamente, hay numerosos factores que pueden invalidar esta suposición. Un número de errores no analíticos pueden también cambiar la concentración de uno o más compuestos analizados en un espécimen de tal forma que los resultados no reflejan la condición fisiológica del individuo. Estos factores son llamados colectivamente fuentes de error pre-analítico. De la misma forma en que al controlar la temperatura, la longitud de onda, y tiempo de incubación se limitará el error analítico, el error pre-analítico también puede ser controlado. Es responsabilidad de los laboratorios tomar medidas que minimicen las fuentes de error, desarrollando procedimientos estandarizados referidos a la preparación del paciente, la recolección de la muestra, los métodos de transporte y la preservación de la misma.

Causas de Variación Previas a la Recolecta

A) Variables del ciclo biológico

Variación cíclica se refiere a los cambios en la concentración de los compuestos analizados, que ocurre de forma predecible a ciertas horas del día, semana o mes. El estudio de estos cambios cíclicos es llamado "cronobiología". La variación rítmica es típica de muchas funciones biológicas; la variación diurna en el metabolismo de drogas y la incidencia de infarto al

miocardio son dos ejemplos de la importancia de este campo. La variación cíclica más reproducible es la circadiana, la cual ocurre durante el transcurso de un solo día. La variación cíclica durante un período de tiempo mayor que un día (infradiana), también puede afectar los resultados en las pruebas de laboratorio. La variación circanual, la cual ha sido reportada en algunas sustancias, está relacionada con cambios en la dieta debido a la estación, o con la variación del clima.

Infradiana: mayor que un día (ejemplo, ciclo menstrual)

Circadiana: alrededor de un día

Ulfradianos: menor de 24 hr

Pruebas Sujetas a Variación Diurna

- Fosfatasa ácida *
- ACTH (hormona corticotropica)
- Catecolaminas
- Cortisol (y otros esteroides adrenales)
- Gastrina*
- Hormona del Crecimiento*
- Tolerancia a la Glucosa
- Hierro
- Osteocalcina*
- Hormona
- Paratiroidea*
- Prolactina*
- Renina/aldosteona TSH*

*Más alta en pasado meridiano (PM) y las otras, más altas en (AM)

Pruebas Afectadas por la Ingestión de Alimentos

- Cloro*
- Gastrina
- Glucagón
- Glucosa

- Hormona del Crecimiento
- Insulina
- Calcio Ionizado Fosfato *
- Potasio *
- Triglicéridos
- pH en Orina

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

B) Variables físicas relacionadas con el paciente

El ejercicio físico es una causa común controlable de variación en los resultados de las pruebas de laboratorio. Dentro de las pruebas químicas de rutina se ha observado que: el potasio, el fósforo, la creatinina y las proteínas séricas son significativamente alterados por un período breve de ejercicio. Con el ejercicio regular, hay un aumento en las enzimas relacionadas con la actividad muscular y un aumento en la concentración de ácido úrico en sangre. El ejercicio intenso, como correr en un maratón, produce una rápida elevación en la concentración del potasio, ácido úrico, bilirrubina y enzimas musculares, mientras que la concentración de glucosa y fósforo disminuyen significativamente. En personas sometidas a entrenamiento para competencias de distancias largas, las concentraciones de gonadotropina y esteroides sexuales están marcadamente disminuidas, mientras que la concentración de prolactina está aumentada. La postura es una causa de variación preanalítica fácilmente controlable. En la posición de pie, se observa que un incremento en la presión hidrostática causa pérdida de agua y electrolitos procedentes del compartimiento del líquido intravascular, lo que a su vez da como resultando un aumento en la concentración de proteínas.

Procedimientos para minimizar las variables en el paciente

a) Variables biológicas cíclicas.

El laboratorio deberá determinar cuales de las pruebas realizadas tienen cambios significativos de concentración, ya sean cíclicos o relacionados con la ingesta de alimento. En condiciones óptimas, los especímenes para estas pruebas deberán ser colectados tan pronto como el paciente despierte y que esté todavía en ayunas. Si hay un patrón de variación ultradiana, como lo hay para la mayoría de las hormonas pituitarias, se deberán coleccionar varios especímenes a intervalos mayores del ciclo usual, para proveer una noción exacta sobre la producción de hormonas.

b) Variables físicas.

Si se están colectando muestras para medir compuestos analizados, que son afectados por el ejercicio, es necesario interrogar al paciente para saber si ha realizado ejercicios vigorosos en las últimas 24 a 48 horas. Cualquier historia de ejercicio vigoroso deberá ser anotada en la forma de requisición e incluirse en el reporte final. Otra alternativa será pedirle al paciente que regrese después para la toma de esa muestra. Antes de la toma de muestra el estado de estrés es difícil de controlar; sin embargo, los médicos deberán estar informados sobre aquellas pruebas que pueden estar afectadas, así como de la magnitud del cambio inducido por el estrés, ya sea físico o mental.

Hay casos donde resulta recomendable que el laboratorio solicite asesoría especial antes de llevar a cabo pruebas que son severamente afectadas por el estrés del paciente, tales como las pruebas de función adrenal o pituitaria, metabolitos de catecolaminas, análisis de lípidos y prueba de tolerancia a la glucosa. Los efectos provocados por la postura pueden minimizarse pidiendo a los pacientes ambulatorios, que permanezcan sentados por lo menos 15 minutos antes de la extracción de la sangre. Para los análisis que sufren alteraciones por la dieta, incluyendo las mediciones de tolerancia a la glucosa, hidroxiprolina, 5-HIAA y los metabolitos de las catecolaminas urinarias, es recomendable proveer al paciente con las indicaciones por escrito, antes de ser programado para la colecta de la muestra. Si pruebas tales como la medición de renina y aldosterona, tolerancia a la glucosa, orina de 24 horas, grasa en heces de 72 horas, requieren de una preparación especial del paciente, resulta buena práctica citar antes al paciente antes para entregarle una explicación detallada en una hoja impresa.

Causas de Variación en la Recolecta de Sangre

Técnicas para la recolecta de sangre

El uso incorrecto de los procedimientos para obtener especímenes puede inducir errores significativos en los resultados finales de las pruebas de laboratorio; los errores relacionados con la colecta de muestras en el laboratorio son las causas más comunes de resultados erróneos. En hospitales de enseñanza, la flebotomía es llevada a cabo por una variedad de individuos (enfermeras, asistentes de médicos y estudiantes) quienes tienen un entrenamiento formal limitado o incluso carecen de él, en técnicas de flebotomía.

En la mayoría de los laboratorios, los especímenes son colectados usando tubos al vacío y agujas

especialmente diseñadas, que simultáneamente permiten la punción de la vena y del tapón del tubo. Los tubos para colecta son hechos: de vidrio y plástico, de los cuales estos últimos son usados con más frecuencia; ambos son apropiados para la mayoría de las pruebas. Muchos tubos están cubiertos con silicón, el cual reduce la adhesión del coágulo, permitiendo mejor separación del suero y de las células. Los tapones están típicamente hechos de hule. En niños y adultos con difícil acceso venoso, puede hacerse una punción capilar para la obtención de la muestra. Ciertos micro tubos especiales, que contienen anticoagulantes pueden llenarse por capilaridad. La contaminación de la muestra con fluidos de tejido es una causa potencial de preocupación en todos los procedimientos de colección capilar de sangre, ya que el fluido tisular virtualmente no contiene proteínas y, por lo tanto, no tiene compuestos analizados unidos a proteínas. Este tipo de contaminación puede ser minimizado usando solo la sangre que fluye libremente del sitio de punción.

Tipos de muestras de sangre

Las diferencias que existen entre sangre arterial, venosa y capilar, son causas ocasionales de resultados erróneos. La sangre arterial es la fuente de nutrientes para todos los tejidos del cuerpo y es la mejor muestra para el análisis de la distribución de sustancias necesarias para los tejidos corporales como el oxígeno. La sangre venosa difiere de la sangre arterial en que tiene menores concentraciones de sustancias usadas en el metabolismo, tales como oxígeno y glucosa, y más altas concentraciones de productos de desecho tales como: ácidos orgánicos, amoniaco y dióxido de carbono. Si sitios específicos como el pie se mantiene tibio, se pueden obtener muestras de sangre capilar que son muy parecidas a las de sangre arterial. En estados de poca perfusión tisular y en los neonatos, sin embargo, hay una diferencia significativa entre la presión parcial de oxígeno (PO₂) de la sangre capilar y la arterial.

a) Errores relacionados con preservativos y anticoagulantes

Los preservativos y anticoagulantes son ampliamente usados para coleccionar muestras de sangre, orina y otros fluidos corporales. Cuando se extrae sangre del cuerpo y se deja coagular, ésta se separa en una fase líquida llamada suero y en un coágulo sólido conteniendo células sanguíneas y fibrina. Si se añade un anticoagulante como la heparina, la fase líquida es llamada plasma. El suero y el plasma son similares en muchos aspectos. El suero difiere del plasma en que carece de fibrina, disminuyendo el total de proteína en un promedio de 3 g/L. En la coagulación, las plaquetas liberan potasio al suero; la concentración de potasio en el plasma es aproximadamente

de 0.2-0.3 mmol/L más bajo que el potasio en suero. Por razones desconocidas, la concentración de fósforo es más baja en plasma por un promedio de 2 g/L. En pacientes con algunos trastornos hematológicos estas diferencias son exageradas. Con estas pocas excepciones, el suero y el plasma heparinizado son usados indistintamente para pruebas de laboratorio. La selección del tipo de muestra depende de la instrumentación, métodos de ensayos y de la necesidad de rapidez en los resultados.

El EDTA, contenido en el tubo utilizado para la recolección de muestras en hematología, es usado también para algunos ensayos químicos porque la quelación de los cationes divalentes inactiva muchas enzimas y conduce a cambios in vitro de hormonas peptídicas y lípidos. La quelación de cationes tales como el hierro, magnesio y calcio, sin embargo, causa una disminución artificial de los resultados en la mayoría de los ensayos colorimétricos y reduce la actividad de enzimas, que requieren cationes activadores (fosfatasa alcalina y creatin cinasa).

La contaminación de muestras con anticoagulantes, especialmente EDTA, es un problema común en muchos laboratorios. Debido al potencial del EDTA para interferir en muchos ensayos, lo recomendable será que los tubos conteniendo EDTA deban llenarse al último. Si se está usando anticoagulante líquido, es importante asegurarse que sea proporcional la cantidad de sangre y anticoagulante.

b) Errores relacionados con los tubos separadores de suero

Los tubos separadores de suero y plasma son usados por muchos laboratorios para simplificar el proceso de separación del suero (o plasma) de los elementos celulares. Los tubos separadores de suero y plasma, contienen un gel relativamente inerte e impenetrable, el cual tiene una densidad intermedia entre los elementos celulares y el plasma o suero. Durante la centrifugación, el gel se levanta desde el fondo del tubo y forma una barrera mecánica que evita que los cambios metabólicos afecten las concentraciones plasmáticas. Los tubos que contienen estos geles pueden ser centrifugados y almacenados sin ser destapados, reduciendo así el riesgo de producir aerosoles infecciosos y evitando en forma simultánea la evaporación. Algunos agentes terapéuticos se adsorben en el gel, disminuyendo falsamente las concentraciones de antidepresivos tricíclicos y ciertas drogas antiarrítmicas como el flecainide. Con estas excepciones, la mayoría de sustancias en plasma no son afectadas por el uso de geles separadores.

c) Errores relacionados con las técnicas de recolecta inadecuada

Torniquetes.

El uso de los torniquetes constituye una importante causa, además controlable, de variación en los resultados de pruebas de laboratorio. Los torniquetes son ampliamente usados en flebotomías para bloquear el retorno venoso, causando dilatación de las venas y haciendo más fácil la identificación de un sitio de venopunción. Los torniquetes a menudo permanecen colocados durante el proceso de venopunción asumiendo que la continua dilatación venosa permitirá una colecta más rápida de la muestra y evitará el "colapso" de la vena. Aunque los torniquetes hacen el proceso de flebotomía más fácil, la disminución en el flujo de sangre que éstos inducen, causa cambios en los resultados de las pruebas de laboratorio que pueden predecirse. Un minuto después de aplicar el torniquete, el incremento de presión causa pérdida de agua y electrolitos del plasma hacia el espacio del fluido extracelular, produciendo una elevación en la concentración de proteínas, células y sustancias unidas a células y proteínas. Si un torniquete se deja por 5 minutos, la elevación en la concentración puede alcanzar hasta 15%. La magnitud de estos efectos puede diferir entre el primero y el último tubo colectados, mostrando una hemoconcentración mayor en las últimas muestras.

Hemólisis.

La hemólisis ocurre cada vez que hay un trauma en los relativamente frágiles eritrocitos, ya sea durante la colecta o con menor frecuencia después de la flebotomía. Una causa poco común de hemólisis, es cuando se lleva a cabo la flebotomía antes de que se seque el alcohol o cualquier otro desinfectante usado. Frecuentemente, la hemólisis es causada por un flujo turbulento no laminar, durante el proceso de colecta. Dentro de los tamaños de agujas que comúnmente se utilizan, la hemólisis no es causada por el uso de agujas muy grandes o muy pequeñas. El flujo no laminar ocurre comúnmente cuando la sangre se mueve muy lentamente o demasiado rápido a través de la aguja. Si la sangre se extrae con una jeringa, al sacar el embolo con fuerza o al inyectar la sangre en los tubos usando presión en el embolo, generalmente se produce hemólisis.

En forma similar, el flujo de sangre lento de una vena colapsada que es depositado a un tubo con vacío a menudo produce una muestra hemolizada. La turbulencia en un tubo conteniendo sangre también puede causar hemólisis después de haber terminado la colecta; los transportadores mecánicos y centrífugas en mal estado son causas raras de hemólisis. La hemólisis altera los resultados de las pruebas de laboratorio. De manera importante el contenido de los glóbulos rojos es liberado, incrementando la concentración de sustancias intracelulares tales como lactato

deshidrogenasa (LDH), potasio y magnesio, mientras que disminuye la concentración de solutos extracelulares como el sodio.

Contaminación con fluidos intravenosos

A muchos de los pacientes hospitalizados, por prescripción médica se les administra fluidos intravenosos, los cuales típicamente tienen una concentración más alta de glucosa, drogas y algunos electrólitos, que los que están presentes en la sangre. La contaminación con fluidos intravenosos ocurre, cuando la sangre es extraída de una vena conectada a la vena que tiene el catéter. Aunque pudiera parecer que una vena en el antebrazo es suficientemente distante del catéter, hay una gran cantidad de interconexiones. Cualquier extracción de sangre de una vena que se encuentre en el mismo lado donde está instalado un catéter, corre el riesgo de experimentar contaminación por fluidos.

Errores relacionados con la identificación del paciente y la muestra correspondiente.

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

Causas de Variación Posteriores a la Recolecta

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

Transporte de las muestras

Errores relacionados con el transporte de muestras.

Comúnmente las muestras son transportadas por los flebotomistas o por los mensajeros. Una tardanza razonable en la transportación, por lo general es bien tolerada por la mayoría de los compuestos analizados, ya que los cambios metabólicos ocurren relativamente despacio a temperatura ambiente. Así, la tardanza hasta de una hora no cambia la concentración de la

mayoría de los compuestos analizados. La glucosa, a menudo considerada una de las sustancias más lábiles en la sangre disminuye de 2 a 3% por hora, a temperatura ambiente, en tubos sin inhibidores glucolíticos como el fluoruro. Los productos del metabolismo (como lactato, amonio y el ion hidrógeno) se acumulan en el plasma después de la toma de la muestra, a menos que las reacciones enzimáticas sean retardadas.

Procedimiento para minimizar errores de transportación

Para minimizar la variación posterior a la colecta, los especímenes deben ser entregados y almacenados rápidamente después de la toma de muestras. Los compuestos analizados que están sujetos a cambios de concentración in vitro a temperatura ambiente, inmediatamente deben ser transportados en hielo al laboratorio. Las instrucciones de manejo deben ser claras; en muchos casos, las muestras son colocadas incorrectamente sobre hielo, transportadas sobresaliendo de un recipiente con hielo o sumergidas en hielo sin agua. Debido a que un sólido conduce calor más lentamente que un líquido, las muestras manejadas de esta manera, no se enfriarán tan rápido y pueden mostrar cambios en la concentración del compuesto analizado.

Aunque el enfriamiento de las muestras durante su transporte minimiza muchos cambios artificiales en la concentración de compuestos analizados, el enfriamiento también incrementa la liberación de potasio de las células. Para una sustancia que sufre cambios en la concentración debidos al metabolismo in vitro, debe indicarse un tiempo específico tolerable de retraso.

Procesamiento de muestras

Errores originados debido al procesamiento incorrecto de las muestras

La centrifugación es el método más comúnmente usado para la separación inicial del suero y las células. En general, la centrifugación de muestras por 5 a 10 minutos a 1000-2000 G es adecuada para la completa separación del suero y eritrocitos, incluyendo las muestras que contienen geles separadores de suero o plasma. Las muestras para obtener suero deben ser centrifugadas únicamente hasta que la formación del coágulo sea completa (al menos 20 a 30 minutos después de su colecta). Se debe tener la precaución de revisar que realmente el coágulo se haya formado, ya que puede haber razones fisiológicas para que ocurran tiempos prolongados de formación del coágulo. Por ejemplo, las muestras de pacientes de diálisis pueden continuar coagulándose por horas después de la colecta debido a la heparina empleada en la preparación de los pacientes para diálisis. Con tubos que no contienen geles separadores, es necesaria una etapa adicional para completar la separación. Antes de la centrifugación, los objetos tales como perlas de vidrio,

taponos o cualquier otro objeto mecánico puede ser adicionado a los tubos para realizar la misma función que el gel. El suero debe ser separado de las células, de otra manera, las células sanguíneas continuarán llevando a cabo sus funciones metabólicas y alterarán la composición del espécimen.

Almacenamiento de muestras

Errores originados debidos al almacenamiento inadecuado de muestras

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

La evaporación puede incrementar la concentración de la muestra. Cuando una muestra no está cubierta, la velocidad de evaporación es afectada por la temperatura, humedad, movimiento del aire y el área superficial de la muestra.

Procedimientos para minimizar errores por almacenamiento.

Los errores por almacenamiento pueden ser evitados seleccionando adecuadamente la hora, la temperatura y las condiciones de almacenamiento. La mayoría de los compuestos analizados son estables, cuando se almacenan en refrigeración durante 72 horas. Si un compuesto analizado no es estable, las muestras deben ser congeladas, hasta su análisis. La mayoría de especímenes pueden almacenarse a -70 °C sin que sean afectadas las concentraciones de los compuestos analizados, más que cuando sean congelados por varios años. A las temperaturas estándares de congelación de -10° a -2 0° C, la mayoría de las sustancias serán estables por períodos más cortos. Debe evitarse la descongelación y recongelación repetidas de muestras; esto es especialmente problemático con los congeladores modernos "libres de escarcha", los cuales periódicamente incrementan la temperatura de congelación para permitir la fusión de la escarcha. Los compuestos analizados que son susceptibles a ciclos repetidos de congelación y descongelación, como el complemento, deberán ser almacenados en otro tipo de congeladores. Las muestras congeladas deben ser descongeladas lentamente a temperatura ambiente o en un baño de agua a 37 °C, y entonces ser mezcladas meticulosamente antes de su análisis.

Criterio para el rechazo de especímenes

Para evitar el reporte de resultados falsos, cada laboratorio debe establecer el criterio para el rechazo de especímenes. Un espécimen debe ser rechazado cuando los resultados obtenidos en su análisis no representan el estado del paciente. La causa más común de rechazo de un espécimen se origina por una identificación inadecuada. Los especímenes deben tener el nombre del paciente y número de identificación tanto en la muestra como en la requisición. Los especímenes que no son extraídos por el personal del laboratorio deberán ser cuidadosamente revisados antes de ser aceptados en el laboratorio. En especímenes que requieren manejo especial, las causas más comunes de rechazo son la colecta y/o transporte inadecuado.

ETAPA ANALÍTICA

En la fase analítica se realizan las mediciones y observaciones en función de los procesos o protocolos que cubre el laboratorio. Cada procedimiento de análisis describirá no sólo las mediciones y observaciones implementadas en el laboratorio, sino también la verificación de las características de ejecución, que pretende la persona que elaboró el procedimiento o el fabricante del sistema analítico. La selección del procedimiento se basa en los criterios de practicabilidad y confiabilidad. Los aspectos de practicabilidad incluyen la educación y el entrenamiento requerido, disponibilidad de reactivos, los requerimientos instrumentales, el tiempo de ejecución, el costo y la seguridad. El personal encargado de elaborar los procedimientos con base en un estándar de operación, debe cuidar estos aspectos al igual que la industria que los adapte a su versión comercial y es importante tomarlos en cuenta antes de seleccionar un procedimiento que se vaya a implementar en el laboratorio. Los criterios de confiabilidad describen la ejecución analítica del método cuando se utiliza en condiciones rutinarias y son los siguientes: la exactitud en la ejecución, la precisión (expresada como una desviación estándar o coeficiente de variación), la veracidad (expresada como desviación), la linealidad, la especificidad analítica, la interferencia analítica, el límite de detección, el intervalo de medición y el error total.

Las características anteriores pueden variar de un laboratorio a otro, ya que la implementación de cada uno de ellas modifica las condiciones óptimas. La etapa o fase analítica en química clínica, también incluye otros aspectos como son: la calibración, los estándares de calibración, los métodos de medición, la capacidad de rastrear los resultados para validarlos, los cálculos para los resultados, la utilización de curvas de medición, el uso de relaciones teóricas para algunas magnitudes, las transformaciones de resultados para hacerlos más informativos al médico, el uso de computadoras y analizadores, los procedimientos que permiten monitorear la ejecución de un

procedimiento de medición con el propósito de una acción correctiva, el uso de materiales o sueros control y la preparación del mismo, el establecimiento de los límites de control, la realización de gráficas de control, la interpretación de las mismas, el uso de reglas de control, el archivo de todo lo relativo al control de calidad para posteriores requerimientos, entre otros aspectos.

POST-ANALÍTICA

La preservación de la calidad post-analítica es el proceso para verificar la calidad en todos los procedimientos que se llevan a cabo cuando el reporte sale del laboratorio y queda en manos del médico o profesional al cuidado de la salud.

Además de utilizar intervalos de referencia correctos, las áreas de preservación de la calidad post-analítica incluyen:

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

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

Los programas de preservación de la calidad a nivel institucional toman la forma de círculos de calidad, comités para preservación de la calidad o comités revisores. El objetivo de estos grupos

no es resolver problemas sino evitar que ocurran. Además es necesario que el laboratorio tenga algún método para preservar en forma continua la calidad, verificando periódicamente su capacidad para funcionar como un departamento de buena calidad. Esto puede incluir la evaluación de los espacios disponibles en el laboratorio para asegurar eficacia en los servicios, revisar el grado de preparación del personal y apoyarlo, para que participe en actividades de actualización de conocimientos y continuar con su formación profesional.

Todos los miembros del personal de laboratorio son responsables de que se preserve la calidad dentro del mismo. Esto será una forma de convivencia y una actitud evidente en todos los niveles de práctica. La calidad debe extenderse más allá de los confines físicos del laboratorio e incluye la responsabilidad de los servicios hacia cualquier médico que ordene una prueba y una preocupación permanente para que el paciente reciba tratamiento eficaz como resultado de los datos que arroja el laboratorio. Una vez que se propicie un aseguramiento de la calidad de los estudios en cada una de las etapas anteriores, se podrán obtener resultados concretos respaldados con bases sólidas, es decir, se podrá afirmar entonces que se tiene un laboratorio con la adecuada estructura operativa y administrativa.

LEGISLACIÓN DE LABORATORIO CLÍNICO

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

PRÁCTICA N0. 2

“LEGISLACIÓN DE LABORATORIO CLÍNICO”

DURACION: 02 HR

- Construcción de un manual de procedimientos para el manejo de RPBI (Consultar el anexo 1 NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental-salud ambiental-residuos peligrosos biológico-infecciosos-clasificación y especificaciones de manejo).
- Organización del laboratorio de Bioquímica Clínica de acuerdo a las normas vigentes (Consultar el anexo 2 NOM-166-SSA1-1997, para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos).

DIAGNÓSTICO DE ALTERACIONES EN LA GLUCOSA SANGUÍNEA

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

PRÁCTICA N.º 3

“DETERMINACIÓN DE GLUCOSA SANGUÍNEA

Método enzimático (GOD-PAD)”

DURACION: 40 min.

1. INTRODUCCIÓN

Los carbohidratos que son producto final de la degradación durante la digestión son: la glucosa, fructosa y galactosa. La Fructosa y la galactosa son transformadas a glucosa en el hígado. Toda la glucosa que no se utilice va a ser fosforilada a glucosa 1-fosfato y almacenada como glicógeno. La principal función bioquímica de la glucosa es la de proporcionar energía en forma de adenosín trifosfato (ATP) para los procesos de la vida. El ATP es la fuente de energía universal para las reacciones biológicas. La oxidación de la glucosa por las vías glucolítica y del ácido cítrico es la fuente principal de energía para la biosíntesis del ATP. El sistema para regular los niveles de glucosa sanguínea funciona para lograr dos fines. El primero es para almacenar glucosa en exceso en relación a las necesidades corporales inmediatas en un reservorio compacto (glucógeno) y el segundo es para movilizar la glucosa almacenada de manera que mantenga el nivel de glucosa sanguínea. La regulación de la glucosa sanguínea es esencial para mantener al cerebro, cuya fuente energética primaria es la glucosa, abastecido por una cantidad constante de la misma. La función de la insulina es desviar la glucosa extracelular a los sitios de almacenamiento intracelular en la forma de macromoléculas (como el glucógeno, lípidos y proteínas). Es así que la glucosa es almacenada en tiempos de abundancia para los momentos de necesidad. En respuesta a la baja glucosa en sangre, como en períodos de ayuno, una serie de agentes hiperglucemiantes actúa en las vías metabólicas intermediarias para formar glucosa a partir de las macromoléculas almacenadas. De esta forma las proteínas y el glucógeno son metabolizados para formar glucosa-6-fosfato (gluconeogénesis), la cual es hidrolizada a glucosa en el hígado y liberada a la sangre para mantener los niveles de glucosa sanguínea. Los agentes hiperglucemiantes más importantes son el glucagón, la epinefrina, el cortisol, la tiroxina, la hormona de crecimiento y ciertas hormonas intestinales. El comportamiento de cada uno de estos agentes es diferente en la regulación de la glucosa sanguínea; mientras que la insulina favorece el metabolismo anabólico (síntesis de macromoléculas), estas hormonas, en parte, inducen el metabolismo catabólico para romper grandes moléculas.

Glicemia es el nombre que se da para denominar a la concentración normal de glucosa en sangre. Cuando se tiene un exceso de glucosa en la sangre por arriba del límite superior normal para una edad, se presenta la hiperglucemia. Cuando los niveles son inferiores se denomina hipoglucemia. Aunque los valores altos de glucosa sérica en ayunas se relacionan con suma frecuencia con la presencia de diabetes sacarina, el número de enfermedades y trastornos fisiológicos que pueden llevar a incrementos mayores es vasto. El aumento de la concentración de glucosa sérica se dan en: respuesta a la tensión, enfermedad de Cushing, diabetes mellitus, acromegalia, hipertiroidismo, pancreatitis crónica, administración de algunos fármacos como diuréticos clorotiacídicos porque suprimen la secreción de insulina, coma hiperosmolar no cetónico. La hipoglucemia se presenta en: enfermedad hepática, desnutrición, posgastrectomía, tolerancia deficiente a la glucosa, administración excesiva de insulina, hipoglucemia funcional o espontánea, ingestión de alcohol en ayunas. Debido a que la concentración de glucosa sérica por lo general se vuelve anormal sólo cuando hay un trastorno grave de esta interacción, el verificar la glucosa sérica ayuda a evaluar la función e integridad del sistema. La prueba de glucosa en ayunas evalúa de modo aproximado la capacidad del cuerpo para regular la glucosa y proporciona información acerca de la clase de anormalidad, si es que la hay. No se tomarán alimentos ni bebidas, excepto agua, cuando menos por ocho horas antes de tomar la muestra.

2. OBJETIVOS

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

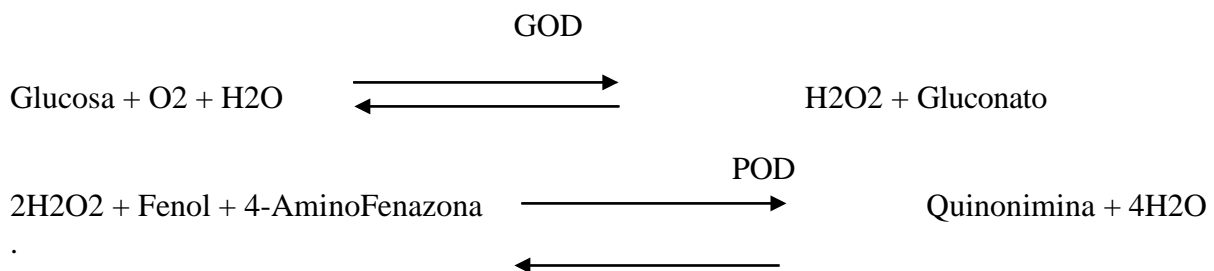
3. FUNDAMENTO DEL METODO

Las técnicas utilizadas para determinar glucosa en un inicio eran inespecíficas debido a que había interferencias químicas por sustancias reductoras diferentes a la glucosa. Durante muchos años se utilizó el método de la O-toluidina (amina aromática primaria) que reaccionaba casi en forma selectiva con la glucosa, sin embargo este originaba la eliminación de un gas que con el tiempo se confirmó era cancerígeno, y aunque su costo es muy bajo se dejó de utilizar.

Existen métodos muy exactos como la Glucosa Deshidrogenasa o la Hexocinasa, sin embargo por su alto costo son usados casi exclusivamente para investigación. La glucosa oxidasa se

descubrió en el año 1928 por Müller y en 1954 Keilin y Hartes la utilizaron para determinar glucosa en materiales biológicos. En 1956 Keston propuso el sistema glucosa-oxidasa-peroxidasa.

El método utilizado para fines diagnósticos el de glucosa-Oxidasa. La enzima gluco- oxidasa cataliza la oxidación de glucosa a gluconato y peróxido de hidrógeno. La concentración de glucosa es proporcional al H₂O₂, el peróxido en presencia de fenol y 4- aminofenazona origina el colorante rojo violeta de antipirrolquinonimina, el color es proporcional a la concentración de glucosa presente. La determinación de glucosa se efectúa mediante el método de Trinder según las siguientes reacciones:



Abreviaturas:

GOD = Glucosa oxidasa

POD = Peroxidasa

4. METODOLOGÍA

4.1 Material biológico

- Suero o plasma venoso.
- La muestra debe recolectarse en ayuno excepto por el agua, durante ocho horas antes de la prueba.
- La muestra debe recolectarse en tubo colector de tapón rojo para suero el cual no contiene anticoagulante, o de color lila el cual contiene EDTA anticoagulante para obtener plasma.
- La muestra debe centrifugarse a 3500 rpm durante 5 min para separar el suero y plasma.
- La glucosa en suero o plasma es estable al menos 3 días a 2-8°C.
- La muestra deberá centrifugarse lo más pronto posible para separar el suero ó el plasma del paquete globular.

Nota:

- Los anticoagulantes de uso corriente como la EDTA, oxalato, heparina o

fluoruro no afectan los resultados.

- La hemólisis hasta 0,3 g/Dl de hemoglobina no interfiere.
- La muestra es inaceptable si:
 - a) Si el suero se obtiene turbio.
 - b) Si la identificación es inadecuada.
 - c) Si el tubo de recolección no es el adecuado.
 - d) Cuando se haya excedido el tiempo máximo de análisis permisible.
- No se han observado interferencias por hemoglobina(4 g/L); bilirrubina (20mg/L); creatinina (100mg/L), galactosa (1g/L).

4.2 EQUIPO

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas de 490-550 nm.
- Centrifuga.

4.3 MATERIAL

Tubos de ensaye de 13 X100mm.

Micropipetas de 1.0 ML.

Micropipeta de 10ML.

Puntas para micropipeta.

Gradilla.

5. REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, CONDICIONES DE ENSAYO Y DESARROLLO DE LA PRÁCTICA, TOMARLO DEL INSERTO DEL KIT DE GLUCOSA-OXIDASA

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N.º 4
“PRUEBA DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA
VÍA ORAL DOSIS ÚNICA”
DURACION: 2.5 HR.

1. INTRODUCCIÓN

La prueba de tolerancia a la glucosa es una prueba natural, que permite establecer la respuesta insulínica frente a un estímulo fisiológico por glucosa. Las personas sanas metabolizan la glucosa a mayor velocidad que los enfermos diabéticos, éstos tienen falta total o parcial de insulina o de su efecto biológico, lo que ocasiona que los niveles de hiperglucemia, después de ingerir glucosa, sean mayores y persistan más tiempo que en las personas con un metabolismo normal. La rápida absorción de la glucosa provoca elevación del CHO en sangre lo que desencadena la liberación de insulina (preformada en las células beta) en cantidad suficiente para cubrir las necesidades, o sea aumentar la captación de la glucosa por los tejidos, en especial el hígado donde se almacena en forma de glucógeno. En un sujeto sano el nivel máximo de glucosa después de la absorción rara vez sobrepasa de 150 mg/dl, las cifras normales se recobran generalmente antes de las dos horas y desde luego antes de las tres horas contadas a partir de la ingestión de glucosa.

2. OBJETIVO

o Determinar la concentración de glucosa durante un estímulo por glucosa oral dosis única y posprandial en una muestra biológica mediante el método enzimático glucosa-oxidasa.

3. FUNDAMENTO

El fundamento es establecer la capacidad que tiene el organismo de un individuo para metabolizar una dosis fija de glucosa administrada por vía oral. Su objetivo es diagnosticar o descartar diabetes u otros cuadros relacionados con resistencia a la insulina. Los métodos más utilizados más comúnmente para evaluar la tolerancia a una sobrecarga de glucosa pueden ser:

- Pruebas de tolerancia utilizando una dosis única oral de glucosa.
- Pruebas de tolerancia con una dosis intravenosa de glucosa.

La prueba más común de tolerancia a la glucosa es la oral. Después de una noche de ayuno (8 a 14 horas), se toma una muestra de sangre 2 horas después de ingerir una carga oral de 75 g de glucosa. Las mediciones intermedias no se realizan de manera rutinaria, a menos que sea solicitado por el médico. Por este motivo se eliminó el término "curva de tolerancia a la glucosa".

Además, el paciente no puede comer durante el examen y se recomienda informar al médico acerca del uso de medicamentos que pueden afectar los resultados del examen. Con frecuencia se solicita la medición de los niveles de insulina (hormona producida por el páncreas que permite introducir la glucosa desde la sangre hasta las cada una de las células del cuerpo). Cuando se suministra la glucosa por boca, la absorción desde el tracto gastrointestinal hacia la sangre continúa durante un lapso variable, que depende de la cantidad de glucosa suministrada. La máxima absorción de glucosa se estima en 0,8 g/kg de peso por hora.

La tolerancia a la glucosa suministrada por vía oral, mide el balance entre la velocidad de pasaje de la glucosa al fluido extracelular y su separación por la asimilación celular y la excreción urinaria, si la hubiere. Por tanto, la prueba puede influirse no sólo por aquellos factores vinculados con la utilización de la glucosa, sino también por los que influyen en su absorción. Las pruebas intravenosas de tolerancia a la glucosa son poco comunes. Para realizar este tipo de prueba, al paciente se le inyecta por vía venosa una cantidad conocida de glucosa durante tres minutos, previa la medición de los niveles de insulina en la sangre en el minuto uno y en el tres.

4. METODOLOGIA

El protocolo correcto para la administración de la Prueba de tolerancia oral a la glucosa es el siguiente:

CONDICIONES DEL PACIENTE

- La persona come normalmente durante los 3 días que preceden la prueba; sin restricción de carbohidratos (CHO), pero integrará a uno de sus días un total de 100 gr de glucosa, lo que se consigue comiendo al final de sus comidas un pan dulce con mantequilla y abundante mermelada o cajeta.
- La persona no come ni toma nada (excepto el agua en razonables cantidades) durante las 8 – 12 horas antes de la prueba.
- La persona debe descansar (no estar activa) durante las 2 horas de la prueba.
- La persona no debe fumar durante las horas de ayunas ni durante las 2 horas de la prueba.
- Otros factores pueden distorsionar el poder diagnóstico de la prueba y deben evitarse: inactividad física severa en las semanas anteriores a la prueba, estar obligado a estar en cama durante varios días anteriores a la prueba, estrés médico (enfermedad) o quirúrgico, algunas drogas (tiazidas, β -bloqueadores, glucocorticoides, fenitoina).

Procedimiento correcto aceptado para la Prueba de tolerancia oral a la glucosa

- La Prueba de tolerancia oral a la glucosa debe administrarse en las horas matutinas (antes de las 12 horas).
- Se toma una muestra de sangre, en ayunas.
- La persona tiene que tomar vía oral toda la glucosa anhidra (300-350 ml) en un período de menos de 5 minutos.
- Dos horas después de iniciar la ingesta de la glucosa anhidra, se toma la segunda muestra de sangre. El resultado de glucosa sanguínea de esta segunda muestra se utiliza para el diagnóstico de la DM.

El método recomendado para la determinación es glucosa-oxidasa

Algunos estudios utilizan pruebas iniciales a -10 minutos (en ayunas, 10 minutos antes de tomar la glucosa anhidra) y a 0 minutos (al momento en que la persona empieza a tomar la glucosa anhidra). En otros estudios, realizan 7 medidas de la glucosa sanguínea en 2 horas, ú 11 medidas de la glucosa sanguínea en 5 horas, o hasta 21 medidas de la glucosa sanguínea en 7 horas. El procedimiento estándar es de 1 medición (a dos horas de haber empezado a tomar la glucosa anhidra líquida) o de 2 mediciones (en ayunas y a dos horas después de haber empezado a tomar la glucosa anhidra líquida). Así, no es obligatorio hacer las 2 mediciones, pero el primero (en ayunas) puede ser útil para determinar la presencia de hiperglucemia. En cuanto a los riesgos y los síntomas que pueda presentar una persona si le administra una carga de glucosa oral sin conocer su valor de glucemia previa a la prueba, serán pocos. El riesgo principal sería de elevar aún más la glucosa sanguínea que ya está anormalmente alta. Cada gramo de glucosa sube la glucosa sanguínea aproximadamente 5 mg/dL. Así, los 75 gramos de glucosa anhidra podrían adicionar 375 mg/dL de glucosa sanguínea al valor inicial (suponiendo la ausencia de insulina suficiente). Por eso, esta prueba está contraindicada para personas que clara u obviamente tienen DM.

La ADA recomienda el uso de la Prueba de tolerancia oral a la glucosa principalmente en casos inciertos (por ejemplo, un día la glucemia está elevada en ayunas, el siguiente día es normal en ayunas). Si la persona ya tiene niveles elevados (más de 125 mg/dL en ayunas), sólo se esperaría un día más para monitorear la glucosa en ayunas otra vez, para confirmar el diagnóstico de DM. Si la persona ya tiene niveles muy elevados (200 mg/dL ó más) de glucemia, la prueba en ayunas o al azar también lo indicará y no será necesario proceder con La Prueba de tolerancia oral a la

glucosa, porque junto con los síntomas de DM, un nivel de 200 mg/dL equivale al diagnóstico de la DM.

La presencia de grandes cantidades de cetonas (++) ó (+++) ó (++++) ó de cetoacidosis sería una contraindicación al uso de la Prueba de tolerancia oral a la glucosa. Normalmente, para que haya cetoacidosis, la glucosa sanguínea tiene que estar elevada (resultado de insuficiente insulina en el cuerpo y resultado prácticamente idéntico con el diagnóstico de DM). El diagnóstico de DM gestacional utiliza una frecuencia distinta de medición glucémica durante la prueba y valores diagnósticos distintos.

5. INTERVALOS DE REFERENCIA

Después de dos horas de haber tomado la dosis de glucosa los resultados siguientes nos indican el diagnóstico:

Niveles de glucosa en sangre (Glucemia)	Diagnóstico
Menor a 140 mg/dL	Normal.
Entre 140 y 200 mg/dL	Prediabetes, intolerancia a la glucosa o resistencia a la insulina.
Mayor a 200 mg/dL	Signos de diabetes mellitus.

Los criterios utilizados para definir la condición de anormalidad de una curva de tolerancia, se basan en el nivel o pico elevado alcanzado por la concentración sanguínea y la falta de retorno al nivel normal, 2 horas después de la ingestión de glucosa, siendo este último el más importante. Un valor hipoglucémico (bajo de glicemia) de 3 a 5 horas después de la ingestión de la glucosa se observa en ciertos pacientes cuya curva de tolerancia era de tipo diabético, interpretándose un hiperinsulinismo, típico del estado diabético. En personas con tolerancia normal a la glucosa, la glucemia no suele sobrepasar los 7,8 mmol/l (140 mg/dl) como respuesta a las comidas y, por lo general, regresa a los niveles previos a las dos o tres horas.(26;27) La Organización Mundial de la Salud define como tolerancia normal a la glucosa tener <7,8 mmol/l (140 mg/dl) a las dos horas de ingerir una carga de glucosa de 75 g dentro del contexto de una prueba oral de tolerancia a la glucosa.(28) En esta guía, se define como hiperglucemia posprandial un nivel de glucosa en plasma >7,8 mmol/l (140 mg/dl) a las dos horas de ingerir alimentos.

RESULTADO

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N.º 5
“LA GLUCOSA POSTPRANDIAL”
DURACION: 40 min.

1. INTRODUCCIÓN

La glucosa postprandial se define como —glucosa después de comer—. Se encuentra influenciada por diversos factores, la glicemia basal, la cantidad y composición de los alimentos, el grado de absorción de los carbohidratos y la secreción de insulina y glucagón. En pacientes no diabéticos la glucosa después de 2 horas de ingestión retorna a los valores basales. En pacientes con diabetes mellitus tipo 2 debido al retardo en el pico de insulina, las excursiones glicéricas son mayores y más largas, encontrándose el pico glicémico a las dos horas de inicio de la ingesta. En diabéticos tipo 1 la prueba está influenciada por el régimen de insulina del paciente.

2. FUNDAMENTO

La razón fundamental para la determinación de la glicemia es el diagnóstico de una serie de alteraciones metabólicas que comparten el fenotipo de hiperglicemia y se denomina Diabetes mellitus. La otra razón importante para determinar glicemia es el diagnóstico de hipoglicemia, la cual se produce por diversas causas, pero en general si no es bien manejada aumenta las posibilidades de desarrollar Diabetes mellitus. Esta prueba no se considera como criterio para el diagnóstico de la Diabetes mellitus por su falta de estandarización y de criterios por las organizaciones que controlan los estándares de diabetes y su diagnóstico en el mundo. Su utilidad más bien es para diagnóstica una hiperglucemia postprandial ya que ésta tiene grandes repercusiones en el diabético.

3. OBJETIVO

Determinar la concentración de glucosa postprandial en una muestra biológica mediante el método enzimático glucosa-oxidasa.

4. METODOLOGIA CONDICIONES DEL PACIENTE:

- La persona come normalmente durante los 3 días que preceden la prueba; restricción de carbohidrato (CHO) durante los 3 días anteriores a la prueba distorsionará sus resultados.
- La persona no come ni toma nada (excepto el agua en razonables cantidades) durante las 8 – 12 horas antes de la prueba.

- La persona debe descansar (no estar activa) durante las 2 horas de la prueba.
- La persona no debe fumar durante las horas de ayunas ni durante las 2 horas de la prueba.
- Otros factores pueden distorsionar el poder diagnóstico de la prueba y deben evitarse: inactividad física severa en las semanas anteriores a la prueba, estar obligado a estar en cama durante varios días anteriores a la prueba, estrés médico (enfermedad) o quirúrgico, algunas drogas (tiazidas, β - bloqueadores, glucocorticoides, fenitoina).

PRUEBA:

- Tomar una muestra en ayunas al paciente.
- Indicar al paciente que vaya a desayunar alimentos ricos en carbohidratos en un desayuno promedio.
- Deberá regresar al laboratorio exactamente 10 minutos antes de que se cumplan dos horas de haber iniciado la ingesta de alimentos.
- A las dos horas exactas del inicio del consumo de alimentos, tomar muestra sanguínea
- Determinar mediante el método de glucosa-oxidasa.

5. RESULTADO

OTRAS METODOLOGÍAS PARA DETECTAR DIABETES

Monitorización continua de la glucosa

La monitorización continua de la glucosa (MCG) es una tecnología de aparición reciente para la monitorización de la diabetes.(139-142) La MCG utiliza un sensor, un dispositivo de almacenamiento de datos y un monitor. El sensor mide la glucosa con una frecuencia de entre 1 y 10 minutos y transmite los resultados a un dispositivo de almacenamiento de datos. El médico puede descargar los resultados retrospectivamente o puede verlos a tiempo real en el monitor. La MCG aporta información sobre los niveles, patrones y tendencias de la glucemia, reflejando así los efectos de la medicación, el estrés, el ejercicio y otros factores que influyen sobre los niveles de glucosa. Debido a que los mecanismos de MCG miden la glucosa intersticial, los valores de análisis llevan un retraso de varios minutos respecto a las mediciones en un punto del tiempo.

1,5-Anhidroglucitol

El 1,5-anhidroglucitol (1,5-AG) en plasma, un poliol alimentario que se produce de manera natural, se ha propuesto como marcador de hiperglucemia posprandial. Debido a que el 1,5-AG es sensible y responde rápidamente a los cambios de la glucosa en suero, refleja con exactitud las elevaciones transitorias de la glucosa en unos pocos días.(143; 144) Un ensayo automatizado con 1,5-AG se ha utilizado en Japón durante más de una década;(145) en los Estados Unidos se ha aprobado recientemente un ensayo similar.(146) No hay estudios de resultados referentes al uso de esta medida del control glucémico.

Hemoglobina glicosilada

Definir el término, valores de referencia y su interpretación

VALORACIÓN DE LA FUNCIÓN RENAL

Los compuestos nitrogenados no proteicos, tienen en común ser productos de desecho del organismo, y precisamente como su nombre lo indica, no son proteínas. Estos son el ácido úrico proveniente de las bases púricas, la urea proveniente de las proteínas y la creatinina que deriva de la fosfocreatina. Por ser productos de desecho tienen que alcanzar órganos que les permitan ser eliminados y por lo tanto estos órganos podrán ser evaluados en su función al permitir la eliminación total de estos productos. Así es que tienen en común la evaluación de la función renal ya que es el riñón el órgano encargado de su eliminación. Sin embargo, algunos de ellos también tendrán otros fines diagnósticos.

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N.º 6
“DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ÚRICO Método Uricasa”
DURACION: 40 min.

1. INTRODUCCIÓN

El ácido úrico en los mamíferos es el metabolito final del catabolismo de los ácidos nucleicos específicamente de la adenina y la guanina (endógeno y exógeno), se sintetiza en el hígado y una pequeña parte en el intestino delgado. Se elimina aproximadamente el 75% por vía renal y el resto se libera al tracto gastrointestinal donde es degradado por la flora bacteriana. Su elevación está asociada a la gota, es decir, los reumatismos hiperuricémicos. En los pacientes con tal disfunción, aparecen cristales de ácido úrico en las articulaciones y en los tendones, lo que origina las manifestaciones reumáticas características. Niveles altos de ácido úrico están también asociados a patología renal por retención de productos nitrogenados, asociándose en estos casos a valores también altos de urea y de creatinina. Se eleva en procesos con aumento en la síntesis de purinas, problemas nutricionales, recambio de ácidos nucleicos, como la proliferación de células tumorales, leucemias, soriasis, drogas citotóxicas, fallo renal, etc. La disminución es menos frecuente.

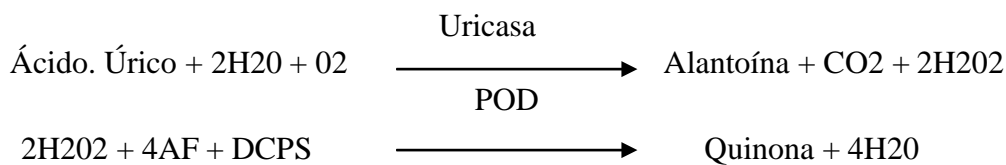
2. OBJETIVO

- Conocer la metodología enzimática colorimétrica para la determinación de ácido úrico
- Aplicar el manejo adecuado de la técnica para la determinación de ácido úrico en una muestra biológica.

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

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Folin y Denis realizaron la determinación de ácido úrico como urato de plata de un filtrado libre de proteínas y utilizando carbonato como reactivo alcalino el cual posteriormente fue sustituido por cianuro para mejorar la sensibilidad. Caraway introduce el uso de carbonato para mejorar la alcalinidad y el ácido fosfotúngstico para impedir el enturbiamiento. Brown utiliza cianuro y uricasa. La uricasa debido a su marcada especificidad se ha utilizado desde hace mucho tiempo para cuantificar el ácido úrico sanguíneo. El principio del método de la uricasa se basa en que el ácido úrico es oxidado por la uricasa a alantoína y peróxido de hidrógeno que en presencia de peroxidada (POD) y 4-aminofenazona (4-AF) y 2,4,diclorofenol sulfonato (DCPS) forma un compuesto rosáceo.



4. METODOLOGÍA

4.1. Material biológico

Suero, plasma de pacientes con 8 horas de ayuno. Muestra de orina de 24 horas.

Orina: Diluir la orina al 1:10 con agua destilada, mezclar y seguir la técnica. Multiplicar el resultado por 10.

4.2 Material

1 Micropipeta de 1,000 µL.

1 Micropipeta de 50 µL.

1 Piseta con agua desionizada o destilada 2 Celdas
de plástico de 3 ml

4 Tubos de vidrio de 13X100

Puntas para micropipeta.

Gradilla.

5. REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, CONDICIONES DE ENSAYO Y DESARROLLO DE LA PRÁCTICA, TOMARLO DEL INSERTO DEL KIT

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 7
“DETERMINACIÓN DE CREATININA Método Jaffe”
DURACION: 40 min.

1. INTRODUCCIÓN

La creatinina es un producto final del metabolismo muscular. Se origina a partir de la creatina por pérdida de una molécula de agua. A su vez, la creatina se produce por hidrólisis del fosfato de creatina, por acción de la creatin-fosfo-kinasa (CPK), apareciendo como metabolitos de dicha reacción el fosfato energético y la creatina. El radical fosfato puede aportar energía directamente por dicha reacción o a través de su acoplamiento a una molécula de ADP para formar ATP y posterior hidrólisis por acción de ATPasa. La eliminación de creatinina en el cuerpo humano tiene lugar casi exclusivamente a través de la filtración glomerular, siendo un importante índice del funcionamiento renal. A diferencia de la urea, la eliminación de creatinina por la orina no viene afectada por la diuresis, al mismo tiempo que para una misma persona es muy constante su eliminación diaria con casi independencia de la dieta alimenticia, siendo la masa muscular el factor condicionante más directo de su excreción total por día. En resumen, podemos decir que la eliminación de creatinina en un intervalo de 24 horas es un valor constante, dependiente principalmente de la masa muscular del individuo, y que por otro lado el cálculo del aclaramiento de la creatinina será un parámetro directo del funcionalismo renal. A medida que la función renal disminuye la creatinina aumenta, tiene particular interés diagnóstico y pronóstico en los siguientes casos: nefropatías, obstrucciones urinarias, miopatías.

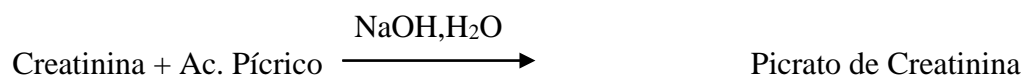
2. OBJETIVOS

- Conocer la metodología de Jaffé para la determinación de creatinina
- Aplicar el manejo adecuado de la técnica para la determinación de creatinina en una muestra biológica.
- Establecer los valores de referencia de la creatinina y comparar con el valor de nuestra muestra problema a analizar.

- Definir cuáles son las principales patologías que se presentan si existen valores altos o bajos de creatinina en una muestra biológica.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Este método fue desarrollado por Jaffé en 1886, la reacción química se basa en el desarrollo de color amarillo-anaranjado que se produce al reaccionar la creatinina con el picrato alcalino. Hay varias sustancias en el suero y orina que actúan como cromógenos inespecíficos (glucosa, ácido ascórbico, piruvato, ácido úrico, bilirrubinas, etc) al reaccionar con el picrato alcalino, la mayoría de ellos provocan interferencia en función de la temperatura, sin embargo solo concentraciones elevadas de estos cromógenos provocan interferencia significativa. Por este motivo tiene una gran importancia la adecuación de todas las variables de la reacción, muy especialmente el pH, con el fin de obtener la máxima sensibilidad para la creatinina y la mínima interferencia de cromógenos. Adaptando la reacción a una medida cinética, logra una gran especificidad debido a que la creatinina reacciona con el picrato alcalino con más rapidez que los cromógenos (metilguanidina, picramato,), por lo que la medida del incremento de color en un breve período de tiempo inicial de la reacción valorarán principalmente creatinina, con poca influencia de los cromógenos inespecíficos, por esto es recomendable, de ser posible, la determinación cinética.



4. METODOLOGÍA

4.1 Material biológico

Suero o plasma heparinizado o con fluoruro de un paciente con ayuno de 8 horas. No indispensable. La creatinina en suero y plasma tiene una estabilidad de al menos de 24 horas a 2-8°C.

Orina de 24 horas. Diluir previamente a 1:50 con agua destilada, multiplicar el resultado por 50.

4.2 Material

1 Micropipeta de 1,000 µL

1 Micropipeta de 200 µL.

1 Piseta con agua desionizada o destilada 2 Celdas
de plástico de 3 ml

5 Tubos de vidrio de 13X100

Puntas para micropipeta Gradilla.

4.4. Equipo

Espectrofotómetro o Fotómetro termostable a 37°C con filtro de 490-510 nm.

Centrífuga

5. REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, CONDICIONES DE ENSAYO Y DESARROLLO DE LA PRÁCTICA, TOMARLO DEL INSERTO DEL KIT

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

PRÁCTICA N.º 8

“DETERMINACIÓN DE UREA Método cinético ureasa”

DURACION: 40 min.

1. INTRODUCCIÓN

La urea es el principal producto final del metabolismo de las proteínas, se deriva fundamentalmente a partir de los grupos amino de los aminoácidos. El hígado es el órgano más importante en la síntesis de la urea a través del ciclo de la ornitina. Una vez formada la urea en el hígado pasa a la sangre y es excretada en la orina. El nitrógeno ureico depende de la relación entre la producción de urea y su excreción. El amoníaco que se origina del catabolismo de las proteínas, para posteriormente convertirse en urea en el hígado, es superior en los infantes que en los adultos, debido a que el desarrollo de la circulación hepática se termina después del nacimiento. La hiperamonemia es una entidad que se presenta con frecuencia debido a defectos congénitos en el ciclo de la urea. El error innato del metabolismo más común es la deficiencia en ornitina transcarbamilasa. La hiperalimentación es una causa mucho más frecuente de hiperamonemia en infantes. Con frecuencia, se diagnostica el síndrome de Reye por un amoníaco sanguíneo elevado en ausencia de otra causa demostrable. Los pacientes adultos muestran elevadas concentraciones de amoníaco sanguíneo en las etapas terminales de: la cirrosis hepática, la falla hepática y la necrosis del hígado aguda y subaguda. Se presagia el comienzo de la encefalopatía hepática por una elevación en el amoníaco sanguíneo. Puesto que la urea se sintetiza en el hígado, en la enfermedad hepática sin daño en la función renal, se presenta nitrógeno ureico sérico bajo, aunque la relación urea a creatinina se puede conservar normal. La elevación en el nitrógeno ureico sérico no implica necesariamente daño renal, puesto que la deshidratación puede llevar a concentraciones de nitrógeno ureico tan altas como 600 mg/L. En los infantes que reciben una fórmula alta en proteínas pueden tener niveles de nitrógeno ureico de 250 a 300 mg/L. Naturalmente, enfermedades como la glomerulonefritis aguda, la nefritis crónica, el riñón poliquístico y la necrosis renal elevan el nitrógeno ureico. La concentración de

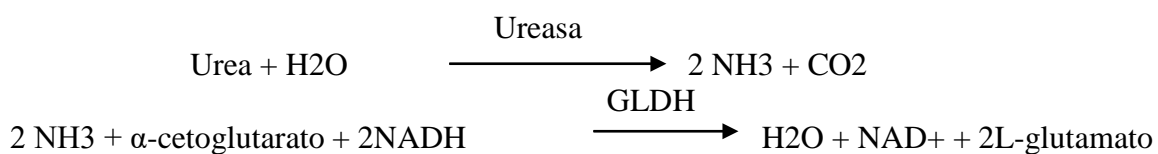
urea aumenta en la sangre por causas: prerrenales: deshidratación y aumento en el catabolismo de proteínas; renales: glomerulonefritis, necrosis tubular; causas postrenales: obstrucciones del tracto urinario provocados por cálculos, glándula prostática dilatada, tumores, etc.

2. OBJETIVOS

- Conocer el fundamento de la determinación de Urea por el método de la Ureasa
- Aplicar el manejo adecuado de la técnica para la determinación de urea en una muestra biológica
- Establecer los valores de referencia de la urea y comparar con el valor de la muestra problema a analizar.
- Definir cuáles son las principales patologías que se presentan si se tienen valores altos o bajos de urea en una muestra biológica.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La urea del suero puede determinarse cuantitativamente en dos formas: 1) método directo haciendo reaccionar a la diacetilmonoxima con la urea formando un complejo colorido, 2) método indirecto desdoblando la urea con ureasa, enzima específica, y midiendo el amoniaco producido por hidrólisis. La ureasa cataliza la hidrólisis de la urea dando amoniaco y CO₂. El amoniaco formado se valora mediante una reacción enzimática Glutamato deshidrogenasa (GLDH), pasando NADH a NAD⁺. La disminución de la absorbancia frente al tiempo es proporcional a la concentración de urea.



4. METODOLOGÍA

4.1 Material biológico

Suero o plasma heparinizado, de un paciente con ayuno de 8 horas.

4.2 Material

1 Micropipeta de 1,000 µL

1 Micropipeta de 200 µL.

1 Piseta con agua desionizada o destilada 2 Celdas de plástico de 3 ml

5 Tubos de vidrio de 13X100

Gradilla.

4.3 Equipo

Espectrofotómetro o Fotómetro termostable a 37°C con filtro de 340 nm. Centrífuga

5. REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, CONDICIONES DE ENSAYO Y DESARROLLO DE LA PRÁCTICA, TOMARLO DEL INSERTO DEL KIT

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

PRÁCTICA N.º 9
“QUÍMICA SANGUÍNEA”

DURACION: 2 HR.

1. INTRODUCCIÓN

Bajo este título se agrupan una serie de determinaciones que indican el contenido de los metabolitos en sangre:

GLUCOSA: Mide la cantidad de la glucosa en la sangre. Valor normal 70-109 mg/dL. Valor Alto más de 120 mg/dL: puede indicar: Diabetes, enfermedades renales, hipertiroidismo, pancreatitis aguda, tumores de páncreas. Valores bajos menos de 60 mg/dL: Hipoglicemia, exceso de insulina, hipotiroidismo.

BUN: nitrógeno ureico en sangre. Se mide para evaluar la función renal y ver el nivel de nitrógeno en la sangre. VALOR NORMAL: 8 -26 mg/dL. Valor elevado: Pueden deberse a deshidratación o deficiencia renal o cardiaca.

UREA: valor normal de 20 40 mg/dl. Representa la cantidad de urea en la sangre.

ACIDO URICO: Valor normal 3,4-7 mg/dL, Valor alto indica: Acidosis metabólica, diabetes, alcoholismo, elevación de purinas (Carnes rojas, vísceras animales, embutidos, mariscos, frutos secos). Valores bajos indican poco consumo de purinas, síndrome de faconi (es un trastorno de los túbulos renales en el cual ciertas sustancias normalmente absorbidas y devueltas al torrente sanguíneo por los riñones son liberadas en su lugar en la orina.)

CREATININA: Indica la función renal según el producto de degradación de la creatinina que es un elemento constitutivo del músculo. Valor normal 0.8 a

1.4 mg/dL. Valor alto puede ser por deshidratación, acromegalia (Exceso de secreción de la glándula del crecimiento), eclampsia, distrofia muscular, etc. Valor bajo: Miastenia gravis.

Desde tiempo memorable se ha venido realizando este grupo de determinaciones con el nombre genérico de química sanguínea, sin embargo es aplicable a todo procedimiento que utilice

reacciones químicas en los diversos líquidos del cuerpo para determinar analitos de interés diagnóstico.

APLICACIÓN DIAGNÓSTICA DE LA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS PLASMÁTICAS

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

PRÁCTICA N.º 10

“PROTEÍNAS TOTALES MÉTODO COLORIMÉTRICO
BIURET”

DURACION: 40 min.

1. INTRODUCCIÓN

Las proteínas son los principales sólidos disueltos en el plasma sanguíneo. Para la síntesis de las proteínas séricas se requiere un hígado sano en plenas funciones, excepto en el caso de las gamma globulinas. El hígado tiene la capacidad de duplicar la producción y salida de proteínas durante las enfermedades asociadas con pérdida de proteínas. En consecuencia, no debe sorprender que las mediciones de proteínas totales no se alteren sino hasta que haya ocurrido una disminución extensiva de la función hepática. La proteína total del suero se compone de por lo menos varios cientos de proteínas individuales, algunas en cantidades muy pequeñas y otras como la albúmina y la inmunoglobulina G (IgG) en cantidades mayores. La concentración de proteína total es útil como un indicador aproximado de la nutrición, de la función gastrointestinal, como indicador de la viscosidad del plasma, y es la base para la cuantificación de las fracciones obtenidas por electroforesis. Una exagerada deficiencia de proteínas en la dieta y ciertas condiciones patológicas que involucran a la absorción intestinal, dan como resultado una baja concentración de proteínas séricas lo que se denomina hipoproteinemia. La hiperproteinemia se define en términos de proteínas séricas totales de más de 9.0 g/dl, y puede deberse casi exclusivamente a hipergammaglobulinemia. Las proteínas totales se dividen en: albúmina y globulinas. Las globulinas son un grupo muy grande de proteínas que se subclasifican en alfa, beta y gamma globulinas. Escriba a continuación una clasificación lo más completa posible de estas fracciones:

Alfa globulinas	Beta globulinas	Gammaglobulinas

Cuando se les separa por electroforesis (**defina electroforesis**) se observan cinco fracciones: la más anódica es la prealbúmina y la albúmina, luego la alfa 1, alfa 2, beta y gamma, siendo éstas últimas las más catódicas. **Dibuje a continuación el gráfico de una electroforesis de proteínas:**

Si además queremos separar inmunoglobulinas podemos hacer una inmunolectroforesis (**defina inmunolectroforesis**), teniendo como resultado la separación de las cinco fracciones de las gamma globulinas, que son: la G, A, M, E y D. **dibuje a continuación una inmunolectroforesis de la fracción gamma de las proteínas séricas.**

Además si se requiere identificar a una globulina en particular existen metodologías para realizarlo. Por ejemplo se cuantifica la transferrina, todas las proteínas de la coagulación, las gammaglobulinas, la transcobalamina, la hemopexina, haptoglobina, etc.

2. OBJETIVOS

- Conocer la metodología de Biuret para la determinación de Proteínas totales
- Conocer otras metodologías para el estudio de las proteínas séricas y sus fracciones.
- Demostrar el manejo adecuado de la técnica para la determinación de proteínas en una muestra biológica.
- Establecer los valores de referencia de proteínas y comparar con el valor de nuestra

muestra problema a analizar.

- Definir cuáles son las principales patologías que se presentan si tenemos valores altos o bajos de proteínas.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Existen varios métodos para la determinación de proteínas plasmáticas: a) técnicas densimétricas basadas en la ley de Van Slyde, b) técnicas refractométricas las cuales usan un refractómetro y se basan en el índice de refracción, c) técnicas colorimétricas, de las cuales la más utilizada es el método de Biuret.

Todos los métodos se basan en peso por volumen, por lo que deberán estar estandarizados con métodos gravimétricos. Las proteínas y los péptidos, al contrario que otros compuestos nitrogenados (urea, ac. Úrico y creatinina) dan en solución alcalina con iones cobre un complejo de color violeta, esta reacción se llama Biuret. Sus resultados son reproducibles y coinciden con el estándar de oro que es el método de Kjeldhal.

4. METODOLOGIA

4.1 Material biológico

Suero o plasma de un paciente con 8 horas de ayuno, o en fase postabsortiva (ayuno)

Conservación de la muestra: si el suero se separa rápidamente y se conserva en congelación, se conserva bien siempre y cuando no se repita la operación varias veces porque pueden sufrir desnaturalizaciones. Si se conservan en refrigeración los tubos deberán estar bien tapados para evitar la evaporación, se puede emplear plasma usando heparina.

4.2 Material

5 tubos de ensaye de 13 X100mm. 1

Micropipetas de 1.0 mL.

1 Micropipeta de 10mL.

Puntas para micropipeta.

Gradilla.

4.3. Equipo

Espectrofotómetro o Fotómetro termostable a 37°C con filtro de 540 nm.

5. REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, CONDICIONES DE ENSAYO Y DESARROLLO DE LA PRÁCTICA, TOMARLO DEL INSERTO DEL KIT

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N.º 11
“DETERMINACION DE ALBÚMINA METODO VERDE
DE BROMOCRESOL”
DURACION: 40 min.

1. INTRODUCCIÓN

La albúmina es una proteína globular que puede ser definida por cinco características:

1. Es soluble en sulfato de amonio 2.03 mol/L a 23°C y a pH superior a 6, cuando es dializada contra agua destilada.
2. La migración de la proteína en un campo electroforético es -6.0 unidades de movilidad de Tiselius en buffer de barbital en el cual una unidad de movilidad es $10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{seg}^{-1}$.
3. El peso molecular es aproximadamente 66,000 daltons y sedimenta a una velocidad de 4.5 S.
4. No posee carbohidratos.
5. La albúmina es el componente principal del suero humano normal.

La albúmina humana ha sido aislada y purificada hasta el punto de poder determinar su secuencia. Está formada por 584 aminoácidos y el peso molecular calculado para esta secuencia es 66,248 daltons. La proteína tiene diversas funciones; desempeña un papel importante en el mantenimiento de la presión osmótica coloide de la sangre, en el transporte de varios iones, ácidos y hormonas y en la nutrición. Los valores bajos de albúmina pueden explicar la toxicidad de algunos fármacos, en los sueros hipoalbuminémicos, la forma libre (activa) de la droga puede ser mucho mayor que en los sueros con niveles normales de albúmina, debido a la gran diferencia en la capacidad de unión entre los dos tipos de sueros. La mayor cantidad de droga libre puede causar entonces, una respuesta tóxica. En la desnutrición, los niveles plasmáticos de albúmina disminuyen mucho más que los de la gammaglobulina. Otras de las funciones importantes de la albúmina es el mantenimiento del 75% de la presión osmótica coloide del plasma. Las alteraciones de los niveles séricos de albúmina pueden tener origen en un gran número de secuelas patológicas y en consecuencia no son específicas, aunque sí resultan útiles para evaluar el estado del paciente.

La hiperalbuminemia usualmente es atribuible a deshidratación o hemoconcentración. La hipoalbuminemia en general se debe a: hemodilución, síntesis inferior a la pérdida y enfermedades que causan una gran pérdida de albúmina. La hemodilución

puede ser causada por el desequilibrio de electrolitos. La menor síntesis puede ser atribuida a la incapacidad para obtener nutrientes debido a una desnutrición, malabsorción o a una incapacidad del hígado para la síntesis de albúmina ocasionadas por enfermedades como hepatitis crónica o aguda. Con frecuencia los niveles bajos de albúmina son debidos a grandes pérdidas como en el caso de síndrome nefrótico, enteropatía con pérdida proteica o lesiones cutáneas exudativas. Si grandes áreas de la superficie cutánea están destruidas se producen severas pérdidas por ellas. El esfuerzo físico, hipertensión, infección del tracto urinario y la enfermedad cardíaca congestiva puede también aumentar la excreción urinaria de albúmina.

2. OBJETIVOS

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

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Los métodos de fijación de colorantes son los más usados para la determinación de albúmina sérica. La albúmina tiene la propiedad de fijarse a una amplia variedad de aniones orgánicos, incluyendo moléculas complejas de colorantes. Las técnicas de fijación de colorantes, se basan en un desplazamiento del máximo de absorción del colorante cuando está unido a la albúmina. Este desplazamiento permite que el color resultante sea medido en presencia de un exceso de colorante, lo cual junto con la alta afinidad de fijación con la albúmina permite que todas las moléculas de esta proteína tomen parte de la reacción. Se ha empleado una gran variedad de colorantes incluyendo naranja de metilo, ácido 2-(4'-hidroxiazobenceno) benzoico, verde de bromocresol y púrpura de bromocresol. La reacción con verde de bromocresol se lleva a cabo usualmente a pH 4.2-4.5 y se mide a 620 – 630 nm. La Asociación Americana de Química Clínica recomendó un método con verde de bromocresol. En este procedimiento la absorbancia del verde de bromocresol unido a la albúmina se mide a 628 nm en un buffer de succinato. La púrpura de bromocresol reacciona con la albúmina a pH 5.2 y su desplazamiento de color se mide a 603 nm.

El fundamento del método consiste en que el verde de bromocresol es un indicador de pH que cambia de amarillo a azul en un rango de pH de 3.8 a 5.4. A un pH de 4.0 la albúmina se une al colorante produciendo un color que absorbe a 630 nm. El color es proporcional a la concentración de albúmina.

4. METODOLOGIA

4.1 Material biológico

Suero o plasma de un paciente con ayuno de 8 horas o en fase postabsortiva.

4.2 Material

5 tubos de ensaye de 13 X100mm. 1

Micropipeta de 1.0 mL.

1 Micropipeta de 10mL.

Puntas para micropipeta.

Gradilla.

4.3. EQUIPO

Espectrofotómetro o Fotómetro con filtro de lectura de: 630 nm.

Centrífuga

5. REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, CONDICIONES DE ENSAYO Y DESARROLLO DE LA PRÁCTICA, TOMARLO DEL INSERTO DEL KIT

ESTUDIO DE LOS LIPIDOS Y DISLIPOPROTEINEMIAS

Generalmente se denominan trastornos lipídicos a cualquier alteración en los niveles normales de los lípidos en sangre. De forma mayoritaria nos vamos a referir al aumento de los niveles de Colesterol (Hipercolesterolemia) y de Triglicéridos (Hipertriglicidemia), aunque hay otras alteraciones a tener en cuenta como es la disminución del colesterol HDL y el aumento del colesterol LDL. La búsqueda activa de pacientes con hiperlipemias está justificada por su gran importancia como factor de riesgo de enfermedad cardiovascular, ya que es, junto con la hipertensión y el tabaquismo uno de los principales factores que predisponen a padecer una cardiopatía coronaria.

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 12
“COLESTEROL TOTAL Método enzimático
(GOD-PAD)”
DURACION: 40 min

1. INTRODUCCIÓN

El colesterol es una sustancia hidrófoba, insoluble en medio acuoso y por tanto insoluble en el plasma sanguíneo. El colesterol se sintetiza sobre todo en el hígado, pero también en la piel, intestino, glándulas suprarrenales, el ovario, el testículo, el riñón y el pulmón. Todas las sustancias que en el organismo producen ácido acético pueden ser precursoras del colesterol (ácidos grasos, glucosa, algunos aminoácidos, etc.). El colesterol es esencial para el funcionamiento normal del organismo ya que es:

- _ Componente estructural esencial de membranas de todas las células animales y partículas subcelulares.
- _ Precursor de ácidos biliares.
- _ Precursor de hormonas esteroides.
- _ Precursor de vitamina D.

Debido a la atención que se ha dado a los alimentos libres de colesterol, es interesante observar que el organismo produce la mayor parte del colesterol en forma endógena. Las fuentes dietéticas aportan tan sólo de 150 a 300 mg diarios mientras que el hígado sintetiza 1.5 g al día. De hecho el exceso de carbohidratos y proteínas de la dieta se utiliza para producir moléculas de acetato, que posteriormente sirven para producir colesterol y ácidos grasos. Los lípidos endógenos que genera el hígado son transportados posteriormente en forma de lipoproteínas para su uso en todo el cuerpo. La circulación sistemática de colesterol es posible gracias a la formación de complejos solubles por unión a proteínas, las lipoproteínas séricas y entre ellas las de tipo b —low density lipoproteins (LDL) son las que representan el mayor porcentaje, con aproximadamente un 60-70% del total. El colesterol es un constituyente primario de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), pero puede encontrarse también en lipoproteínas de alta densidad (HDL) y en las de muy baja densidad (VLDL). Las diversas lipoproteínas y apoproteínas asociadas, cuando se analizan directa o indirectamente, producen datos diagnósticos útiles para el analista, ya que es posible determinar el riesgo de coronariopatía.

Clínicamente es importante, ya que existe una relación entre la concentración del colesterol plasmático y la presencia de problemas cardíacos coronarios, hipertensión arterial, hipotiroidismo, diabetes mellitus, la gota y aterosclerosis. En condiciones fisiológicas como el embarazo y la lactancia puede encontrarse aumentado debido a dietas ricas en grasas de origen animal. También se eleva en la ictericia obstructiva, colelitiasis, mixedema, síndrome nefrótico, algunas xantomosis. Niveles bajos se encuentran en la desnutrición, insuficiencia hepática, hipertiroidismo, nefritis terminal, insuficiencia corticosuprarrenal (enfermedad de Addison) y tratamiento con insulina.

2. OBJETIVOS

- i. Explicar la importancia del control de los niveles plasmáticos de colesterol total.
- ii. Conocer la fundamentación del método enzimático punto final para determinar la concentración de colesterol total en una muestra biológica.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

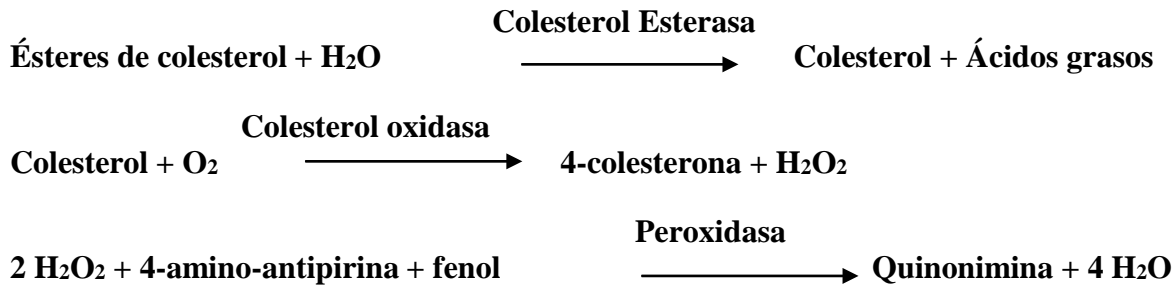
Los métodos químicos (como el de Liebermann 1885-Burchard 1890) han sido sustituidos por los métodos enzimáticos, los cuales resultan adecuados debido a su alta especificidad, exactitud y facilidad de realización. Básicamente este tipo de métodos constan de tres etapas:

1. hidrólisis de los ésteres de colesterol, utilizando colesterol esterasa;
2. Oxidación del colesterol catalizada por la colesterol oxidasa, reacción que produce delta-4-colestenona y peróxido de hidrógeno;
3. y finalmente cuantificación de oxígeno consumido o el peróxido de hidrógeno formado.

Debe tenerse presente que la colesterol oxidasa no es específica para el colesterol, y que ha sido informado que el ácido ascórbico, la bilirrubina y la hemoglobina pueden interferir en grado variable. Sin embargo estos métodos están sujetos a menos error que los químicos.

El Colesterol y sus ésteres se liberan de las lipoproteínas por los detergentes. La colesterol esterasa hidroliza los ésteres de colesterol presentes en la muestra dando colesterol libre y ácidos grasos, en una posterior oxidación enzimática mediante la colesterol oxidasa se forma H₂O₂ y colesteno. El H₂O₂ se valora por la reacción Trinder, mediante un cromógeno, fenol y 4-Aminoantipirina, en presencia de Peroxidasa, formando una quinonimina cuya coloración,

encarnada, es proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra.



4. METODOLOGÍA

4.1 Muestra biológica

- El paciente debe encontrarse en un estado fisiológico regular (sin ejercicio vigoroso) y bajo su dieta ordinaria del día anterior a la prueba.
- La muestra debe recolectarse en ayuno total excepto agua, durante un lapso de 12 a 14 horas antes de la prueba.
- La muestra debe recolectarse en tubo recolector al vacío de tapón rojo el cual no contiene anticoagulante.
- La muestra debe centrifugarse a 3500 rpm para separar el suero.
- La estabilidad de la muestra es de una semana guardada, tapada y a 2-8° C ó 3 meses congelada a -20 °C.

4.2 REACTIVO

REACTIVO 1

Tampón pH 6.7 950mmol/L

Fenol 24 mmol/L

Colato de Sodio 5 mmol/L

Peroxidasa 1250 U/L

Colesterol esterasa 200 U/l

Colesterol oxidasa 300 U/L

4-Aminoantipirina 0.5 mmol/L

ESTÁNDAR

Solución Colesterol 200 mg/dL, 2 g/L, 5,17 mmol/L

4.3. EQUIPO

Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 500-550nm. Centrifuga.

Baño seco o Baño de agua a 37°C.

4.4 MATERIAL

5 Tubos de ensayo de 13 x 100 mm

1 Micropipetas de 1mL

1 Micropipeta de 10mL

_ Puntas para micropipeta.

_ Gradilla.

5. REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, CONDICIONES DE ENSAYO Y DESARROLLO DE LA PRÁCTICA, TOMARLO DEL INSERTO DEL KIT

6. INTERVALOS DE REFERENCIA

La American National Education Program ha establecido la siguiente clasificación de acuerdo a los niveles de colesterol total en suero y el riesgo de desarrollo de enfermedades coronarias cardiacas:

Normal menor a 200 mg/dl (5.17 mmol/L)

Limite alto 200 a 239 mg/dl (5.17 a 6.19 mmol/L)

Alto mayor a 240 mg/dl (6,20 mmol/L)

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 13
“COLESTEROL LDL Y HDL”
DURACION: 1 HR.

INTRODUCCIÓN

El contenido aproximado de colesterol con cada familia de lipoproteínas es variable (en % por unidad de peso). Dado que cada familia posee distinta actividad biológica el significado clínico de un aumento de colesterol depende de la o las lipoproteínas que se encuentran en exceso. Por otra parte, los mecanismos reguladores de los niveles plasmáticos de lipoproteínas son muy complejos y pueden ser afectados por múltiples factores (genéticos, ambientales, fisiológicos o patológicos), siendo posible encontrar valores de colesterol total cercanos al rango normal acompañados de alteraciones en las fracciones lipoproteicas.

Las HDL y las LDL han sido las más estudiadas por su importante actividad biológica:

- Las LDL, producto del metabolismo de las VLDL en plasma, son las encargadas del transporte del colesterol exógeno (y en mucho menos proporción, endógeno) hacia el interior de las células.
- Las HDL, sintetizadas en el hígado, remueven el colesterol no utilizado por las células (dentro de ciertos límites de concentración), transportándolo hacia el hígado para su degradación.

Diversos estudios epidemiológicos han confirmado que el exceso de colesterol de LDL con respecto a un valor crítico (1,9 g/l) debe ser considerado como factor de riesgo para el desarrollo de enfermedad cardíaca coronaria, considerando que el efecto protector de las HDL sólo parece tener relevancia dentro de cierto rango de concentraciones de colesterol circulante. Tales hallazgos permiten deducir que los valores aislados de colesterol de HDL (C-HDL) o de LDL (C-LDL) no pueden tomarse como índices predictivos de riesgo, sino que es necesario conformar un perfil lipídico con los valores de colesterol total, colesterol de HDL y colesterol de LDL.

Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) son partículas de origen no bien establecido, estrechamente relacionadas con el transporte reverso del colesterol y con una comprobada

función antiaterogénica que se debe sólo en parte a este transporte reverso, y en parte a otras múltiples propiedades relacionadas con inflamación, función endotelial y mecanismos de aterotrombosis y fibrinólisis. Es sabido que tener colesterol HDL (C-HDL) bajo es un factor de riesgo independiente para enfermedad coronaria y eventos cardiocerebrovasculares y por muchos años se recomendó elevar el C-HDL por medios no farmacológicos, como dejar de fumar, perder el exceso de peso, combatir el sedentarismo y controlar la diabetes, en pacientes con LDL en valores normales.

Factores de Riesgo de Enfermedad Cardiovascular

La aterosclerosis producida por el acumulo de colesterol en las arterias es la causa subyacente a las enfermedades cardiovasculares, cerebrovasculares y vasculares periféricas. Por lo tanto se considera que tener niveles altos de colesterol en sangre es un factor de riesgo que predispone a la enfermedad cardiovascular. Otros factores de riesgo que pueden aumentar las posibilidades de desarrollar esta enfermedad son los que aparecen a continuación:

Factores de riesgo que no se pueden modificar:

- Edad: A partir de 45 años en el hombre y 55 en la mujer el riesgo de sufrir un accidente cardiovascular aumenta
 - Historia familiar de enfermedad cardiovascular prematura

Factores de riesgo que sí se pueden modificar:

- Colesterol elevado
- Tabaquismo
- Tensión arterial elevada
- Diabetes mal controlada
- Triglicéridos elevados
- Obesidad o sobrepeso
- Estrés

Inactividad física Para realizar una valoración rápida y sencilla del riesgo de enfermedad cardiovascular al que está sometido un paciente en función de sus niveles de colesterol se ha desarrollado el denominado **Índice Aterogénico de Castelli**. Se calcula dividiendo el valor de Colesterol Total entre el valor de Colesterol HDL.

Índice Aterogénico= Colesterol Total / Colesterol HDL

Hombres	Mujeres
Riesgo bajo Inferior a 5 %	Inferior a 4,5 %
Riesgo moderado 5 – 9 %	4,5 – 7%
Riesgo alto Superior a 9%	Superior a 7%

En los últimos años ha aparecido un nuevo trastorno denominado Síndrome Metabólico que es una asociación de factores de riesgo para la enfermedad cardiovascular, como el trastorno lipídico, la diabetes y la hipertensión arterial.

2. OBJETIVOS

- Conocer la fundamentación de los métodos para determinar C-HDL y C-LDL.
- Comprender el significado del riesgo aterosclerótico en los individuos.
- Establecer los valores de referencia ideales de las C-HDL y C-LDL y su correlación con las enfermedades.

3. FUNDAMENTACION DEL MÉTODO

Las lipoproteínas de baja densidad (LDL o -lipoproteínas β) se separan del suero precipitándolas selectivamente mediante el agregado de polímeros de alto peso molecular. Luego de centrifugar, en el sobrenadante quedan las demás lipoproteínas (HDL y VLDL); el colesterol ligado a las mismas se determina empleando el sistema enzimático Colesterol Oxidasa/Peroxidasa con colorimetría según Trinder. Por diferencia entre el colesterol total y el determinado en el sobrenadante, se obtiene el colesterol unido a las LDL.

4. INTERVALOS DE REFERENCIA

- Colesterol LDL

- Límite superior deseable por debajo de 130 mg/dl
- Límite alto: 130 – 150 mg/dl
- Por encima de 150 mg/dl se consideran resultados patológicos

- Colesterol HDL

- El intervalo de normalidad: 40 - 60 mg/dl
- Valores inferiores a 40 mg/dl indican un mayor riesgo de sufrir enfermedad cardiovascular.

5. REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, CONDICIONES DE ENSAYO Y DESARROLLO DE LA PRÁCTICA, TOMARLO DEL INSERTO DEL KIT

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 14
“TRIGLICÉRIDOS Método enzimático (GOD-PAD)”
DURACION: 40 min.

1. INTRODUCCIÓN

Las fuentes de lípidos pueden ser exógenas o endógenas, sus vías metabólicas hacia todas las áreas del organismo y procedentes de ellas constituyen una red compleja de reacciones químicas en las que participan moléculas individuales y lipoproteínas de gran tamaño. Los triglicéridos están constituidos por glicerol y ácidos grasos. Estos forman parte de las 5 clases de lipoproteínas que transportan a los lípidos en el plasma:

- Quilomicrones, constituidos casi totalmente por triglicéridos dietéticos.
- Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL).
- Lipoproteínas de densidad intermedia (IDL).
- Lipoproteínas de baja densidad (LDL), conocidas también como lipoproteínas beta.
- Lipoproteínas de alta densidad (HDL), también conocidas como lipoproteínas alfa.

Aproximadamente del 40% del consumo de calorías en la dieta consta de lípidos y alrededor del 35% provienen de lípidos animales y el 5% de lípidos vegetales poli-insaturados. Los triglicéridos constituyen una porción importante del (98 a 99%) de los lípidos animales y el resto son colesterol y otros lípidos. Los padecimientos en los cuales predominan los triglicéridos son: xantoma eruptivo, lipemia retiniana, organomegalia, pancreatitis, intolerancia a la glucosa, hiperuricemia, aterosclerosis prematura, diabetes mellitus insulino pénica, disglobulinemia, lupus eritematoso, embarazo, uso de hormonas, enfermedad por almacenamiento de glucógeno, alcoholismo, enfermedad de Gaucher, mieloma. Los incrementos en los valores de triglicéridos en el infarto miocárdico pueden durar un periodo tan prolongado como de un año. Las concentraciones de triglicéridos en sí, tienen poco valor de predicción y aumentan después de la

ingestión de grasa.

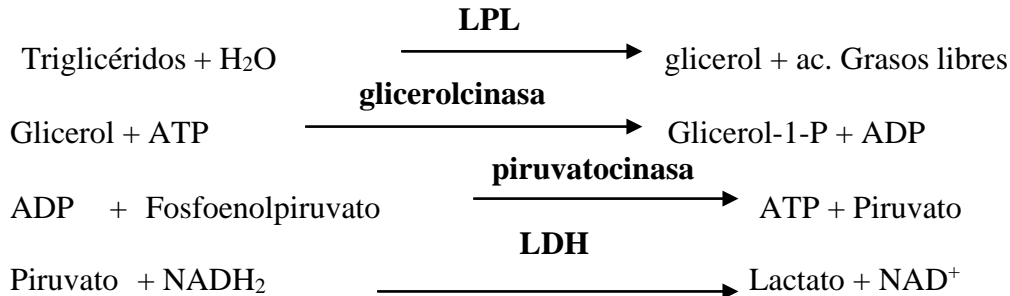
2. OBJETIVOS

- Explicar la importancia del control de triglicéridos en el plasma sanguíneo.
- Conocer la fundamentación por el método enzimático para la determinación de triglicéridos plasmáticos.
- Destacar la importancia de los triglicéridos en el metabolismo humano y su relación con diversas patologías.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

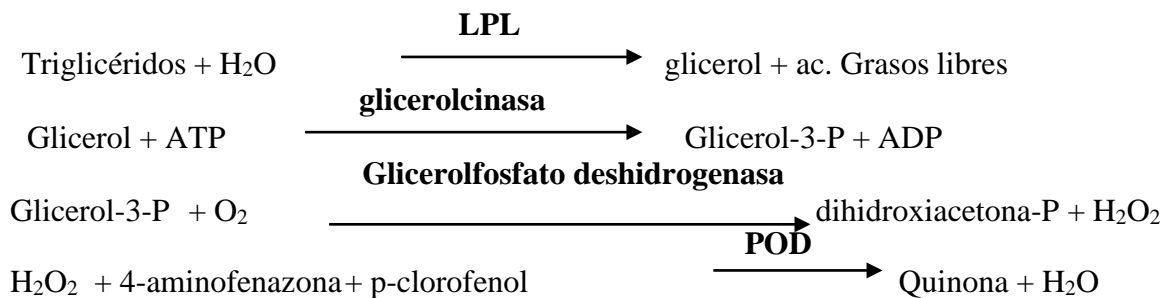
La mayoría de los métodos actuales para determinar triglicéridos están basados en base al glicerol. El glicerol puede ser liberado por hidrólisis química mediante saponificación alcalina o con la enzima lipoproteinlipasa (LPL). Una vez liberado el glicerol de los triglicéridos se puede cuantificar por métodos químicos o enzimáticos. Los métodos enzimáticos pueden ser colorimétricos o cinéticos.

Método cinético:



El consumo de NADH₂ (disminución de la absorbancia) es proporcional ala concentración de glicerol proveniente de los triglicéridos séricos.

Método colorimétrico:



Por medio de este método El glicerol ES fosforilado por La glicerolfosfato deshidrogenasa

(GPO) y ATP en presencia de glicerol quinasa (GK) para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina-5-difosfato (ADP): El G3P ES entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrógeno por GPO. Al final del peroxido de hidrógeno reacciona con 4-aminofenzona (4-AF) y p-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa (POD) dando una coloración roja. La intensidad del color es proporcional a la concentración de triglicéridos presentes.

4. METODOLOGÍA

4.1 Muestra biológica

Suero: El paciente deberá encontrarse en un estado fisiológico regular (sin ejercicio vigoroso) y bajo su dieta ordinaria del día anterior a la prueba. La muestra debe recolectarse en ayuno total de 12 a 14 horas antes de la prueba, excepto agua. La muestra debe recolectarse en tubo recolector al vacío de tapón rojo el cual no contiene anticoagulante. Para separar el suero la muestra debe centrifugarse durante 10 minutos a 3500 rpm.

Nota: Los triglicéridos son estables en suero 3 días a 2-8°C o una semana a 15- 25°C.(14)

4.2 REACTIVOS

Reactivo R:

- GOOD pH 6.3 50 mmol/L
- P-clorofenol 2 mmol/L
- LPL 150000 U/L
- GK 500 U/L
- GPO 3 500 U/l
- 4-AF 0.1 mmol/L
- ATP 0.1 mmol/L

Calibrador de triglicéridos

El Reactivo R y el calibrador están listos para su uso.

4.3. EQUIPO

Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm. Centrifuga.

Baño seco o Baño de agua a 37°C.

4.4 MATERIAL

5 Tubos de ensayo de 13 x 100 mm

1Micropipetas de 1mL

1Micropipeta de 10mL

Puntas para micropipeta.

Gradilla.

5. REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, CONDICIONES DE ENSAYO Y DESARROLLO DE LA PRÁCTICA, TOMARLO DEL INSERTO DEL KIT

6. INTERVALOS DE REFERENCIA

Hombres 40-160 mg/dl

Mujeres 35-135 mg/dl

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 15
“LIPIDOGRAMA ELECTROFORÉTICO”
DURACION: 2 HR.

1. INTRODUCCIÓN

En 1970 la OMS fijo guías para el diagnóstico y la terapéutica de los seis tipos de hiperlipoproteinemias de Fredrickson. Los métodos de determinación de las lipoproteínas fueron: electroforesis y la centrifugación. La electroforesis de lipoproteínas es muy importante como metodo de clasificación de lipoproteínas. Normalmente se observan dos bandas principales en el lipidograma que corresponden a las alfa y beta lipoproteínas, las cuales por técnicas de ultracentrifugación se identifican como lipoproteínas HDL (ALTA DENSIDAD), y LDL (BAJA DENSIDAD). La electroforesis en papel permite identificar dentro del grupo de las betalipoproteínas, otra banda (las pre-beta) que aparece solo en ciertas hiperlipidemias y corresponden a las VLDL (MUL ALTA DENSIDAD). La velocidad a la cual cada lipoproteína flota en una solución de cloruro de sodio con $D= 1.063$ puede ser expresada en unidades Sf (Svedberg) de flotación. Una unidad Sf es igual a 10^{-13} cm/seg/dina/g a 26°C .

La ultracentrifugación permite distinguir lipoproteínas de:

- Alta densidad (HDL)
- Baja densidad (LDL)
- Muy baja densidad (VLDL)

Las lipoproteínas se separan por electroforesis en buffer con albúmina, que aumenta la movilidad de la pre-beta lipoproteína y la ubica en la zona de la alfa-2 globulina. El orden de las bandas es

el siguiente:

- Zona de alfa 1 globulina: Alfa lipoproteínas
- Zona de alfa 2 globulina: pre Beta lipoproteínas
- Zona de beta globulina: betalipoproteínas
- Zona de siembra: quilomicrones

ANÁLISIS DE ELECTROLITOS SÉRICOS

1. INTRODUCCIÓN

Los electrolitos son sustancias que en solución acuosa se dividen en sus átomos o radicales constitutivos; éstos reciben el nombre de iones y poseen cargas eléctricas de igual valor y signos opuestos. En el organismo los electrolitos pueden ser **intracelulares: iones potasio, magnesio, calcio, sulfatos y fosfatos; o extracelulares: sodio, cloruro y bicarbonato** (tabla 1).

Tabla 1. COMPOSICION ELECTROLÍTICA DE LOS FLUIDOS		
Electrólitos	Fluido intercelular	Fluidos extracelular
CATIONES		
Sodio (Na ⁺)	15 mEq/l.	140 mEq/l
Potasio (K ⁺)	155 mEq/l	5 mEq/l
Calcio (Ca ⁺⁺)	5 mEq/l	5 mEq/l.
Magnesio (Mg ⁺⁺)	30 mEq/l.	2 mEq/l.
ANIONES		
Cloro (Cl ⁻)	2 mEq/l.	102 mEq/l.
Bicarbonato (HCO ₃ ⁻)	8 mEq/l.	24 mEqL.
Proteínas	55 mEq/l.	16 mEq/l.
Fosfatos (HPO ₄)	95 mEq/l.	2 mEq/l.
Sulfatos (SO ₄)	20 mEq/l	1 mEq/l.
Aniones orgánicos		6 mEq/l

En el organismo los electrolitos desempeñan muchas funciones importantes, entre ellos destacan los iones sodio y potasio y los aniones cloro y bicarbonato, ya que son los que principalmente mantienen la presión osmótica extra e intracelular y la electro-neutralidad del plasma además contribuyen a regular el pH sanguíneo.

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 16
“DETERMINACIÓN DE CLORUROS
Método de Schales y Schales”
DURACION: 40 min.

1. INTRODUCCIÓN

El cloro, el principal anión extracelular, ejerce un efecto directo sobre la presión osmótica, la distribución del agua y el equilibrio entre aniones y cationes. Se encuentra hipercloremia en la acidosis e hipocloremia en la alcalosis.

Hay Hipercloremia: en la acidosis que se presenta en los cariacos, tratados con cloruro de amonio, en el suministro excesivo de solución salina, con la deshidratación e hipertensión. La hipercloremia es grave cuando se sobrepasa los 125 mEq/L.

Hay Hipocloremia: en las fases avanzadas de insuficiencia renal por nefritis, como consecuencia de vómitos abundantes y repetidos, cuando se hacen lavados gástricos o se aplica permanentemente una sonda gástrica, en diarreas y sudoración abundante y cuando falta sodio, pudiendo en este último caso conducir a la deshidratación y uremia, la hipocloremia es grave si los valores son inferiores a 80 mEq/L.

2. OBJETIVOS

- i. Determinar la concentración en una muestra biológica de cloro utilizando el método de colorimétrico de Schales y Schales.
- ii. Destacar la importancia del ión cloro en el metabolismo humano y su relación con diversas patologías.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

En presencia de nitrato férrico y tiocianato de mercurio, los iones cloruro provocan la formación de tiocianato férrico. La intensidad del tono marrón de este complejo es proporcional a la concentración de cloruros. Escribir la **Reacción:**

1)

2)

4. METODOLOGÍA

4.1 Muestra biológica

Suero, plasma heparinizado u orina de 24 horas.

4.2 REACTIVOS

Reactivo 1

Tiocianato de mercurio (II)

Nitrato de hierro (III)

Ácido Nítrico

Estándar: Cloruro 100 mEq/L ; 100 mmol/L

4.3. EQUIPO

Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 500-550nm.

Centrifuga.

Baño seco o Baño de agua a 37°C.

4.4 MATERIAL

Tubos de ensayo **de plástico** de 13 x 100 mm

Micropipetas de diversas capacidades

Puntas para micropipeta

Pipetas graduadas de 1, 2 y 5 ml

Gradilla.

4.5. INTERFERENCIAS

Pueden interferir triglicéridos (desde 180 mg/dl), glucosa (500 mg/dl), ácido ascórbico (desde 8 mg/dl) y hemoglobina (300 mg/dl).

5. REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, CONDICIONES DE ENSAYO Y DESARROLLO DE LA PRÁCTICA, TOMARLO DEL INSERTO DEL KIT

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

PRÁCTICA N0. 17

“DETERMINACIÓN DE FOSFATO

Método de Fiske-Subbarow”

DURACION: 40 min.

1. INTRODUCCIÓN

Tiene diversas funciones importantes ya que interviene en el metabolismo de los carbohidratos como intermediarios fundamentales y como donantes de fosfatos de alta energía (ATP) además es constituyente de ácidos nucleicos, fosfolípidos, nucleótidos y otras moléculas. El fósforo se excreta en las heces y en la orina, principalmente en forma de fosfato. Hay hiperfosfatemia en la insuficiencia renal crónica, hipoparatiroidismo y leucemia. Hay hipofosfatemia en el raquitismo, hiperparatiroidismo y en la esteatorrea.

2. OBJETIVOS

- o Determinar la concentración en una muestra biológica de fosfato utilizando el método de colorimétrico de Fiske-Subbarow.
- o Destacar la importancia del ión fosfato en el metabolismo humano y su relación con diversas patologías.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El fósforo inorgánico presente en el suero y otros líquidos corporales forma fosfomolibdato con molibdato de sodio. Por reducción con sulfato de p- metilaminofenol se transforma en fosfomolibdato en azul de molibdeno coloidal que puede determinarse fotométricamente. La cantidad de azul de molibdeno formado es proporcional a la de fosfato inorgánico existente.

Escribir la Reacción:

4. METODOLOGÍA

4.1 Muestra biológica

Suero, plasma heparinizado libre de hemólisis. El suero o plasma deben separarse cuanto antes de los eritrocitos con el fin de evitar incrementar la cantidad de fosfato proveniente de los eritrocitos. Orina de 24 horas. Recoger la orina en recipientes conteniendo 10 ml de ácido

clorhídrico al 10%, para evitar la precipitación de fosfatos. Ajustar el pH a 2.0. Diluir la muestra con agua destilada. Mezclar y multiplicar el resultado por 10.

4.2 REACTIVOS

Reactivo 1 Molibdato

amónico Ácido

sulfúrico Detergente

Precauciones: corrosivo provoca quemaduras graves. En caso de accidente consultar el inserto de acuerdo al número de código en el Kit de fosfato. Estándar: fósforo acuoso 5 mg/dl. Debido a la naturaleza del producto es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.

4.3. EQUIPO

Espectrofotómetro.

Centrifuga.

Baño seco o Baño de agua a 37°C, 30°C ó 25°C.

4.4 MATERIAL

Tubos de ensayo **de plástico** de 13 x 100 mm

Micropipetas de diversas capacidades

Puntas para micropipeta

Pipetas graduadas de 1, 2 y 5 ml

Gradilla.

4.5. INTERFERENCIAS

No realizar la prueba con muestras hemolizadas ya que los hematíes contienen una alta concentración de esteres de fósforo orgánico, que es hidrolizado a fósforo inorgánico durante su conservación, el incremento es de 4-5 mg/dl por día. Se han descrito drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del fósforo. La mayoría de los detergentes utilizados para el lavado del material contienen quelantes y fosfatos que interfieren en el ensayo. Se recomienda limpiar el material con ácido nítrico diluido y enjuagar con abundante agua desionizada.

5. REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, CONDICIONES DE ENSAYO Y DESARROLLO DE LA PRÁCTICA, TOMARLO DEL INSERTO DEL KIT

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N.º 18
“DETERMINACIÓN DE CALCIO
Método de Arsenazo”
DURACION: 40 min.

1. INTRODUCCIÓN

Es el catión más abundante en el organismo humano, solo el 1% se encuentra en los líquidos extracelulares, el resto se localiza en los huesos en la forma cristalina de fosfato e hidróxido de calcio que en conjunto constituyen la hidroxiapatita. Existe una estrecha relación entre el metabolismo del calcio y del fósforo por lo que se requiere de una regulación precisa en la concentración de ambos elementos en el líquido extracelular. En el plasma aproximadamente la mitad del calcio está en forma ionizada libre (50%) y la otra mitad unida a proteínas predominantemente (40-45%) y a ácidos orgánicos (5 a 10%). La forma libres fisiológicamente importante, pero en los laboratorios se cuantifica el calcio plasmático total. En la acidosis el calcio libre se eleva y la del unido disminuye, en la alcalosis sucede lo contrario. Los niveles de proteínas en suero deben ser considerados para una adecuada interpretación de la concentración total de calcio en suero.

Hay hipercalcemia: hiperparatiroidismo, tumores y metástasis en hueso, hipertiroidismo o sobredosis de vitamina D. Hay hipocalcemia: fallo renal crónico con hipercreatinemia e hiperfosfatemia, hipoparatiroidismo y deficiencia de vitamina D. Hay calciuria: en litiasis y tubulopatías renales.

2. OBJETIVOS

- o Determinar la concentración en una muestra biológica de calcio utilizando el método de colorimétrico arsenazo.
- o Destacar la importancia del ión calcio en el metabolismo humano y su relación con diversas patologías.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El arsenazo III (ácido 2,7-(bis(2-arsonofenilazo))-1,8-dihidroxi-naftaleno-3,6-disulfónico) forma en un medio neutro un complejo azul con el calcio. La intensidad del color azul es directamente proporcional a la concentración de calcio total.

Escribir la Reacción:

4. METODOLOGÍA

4.1 Muestra biológica

suero

Orina de 24 horas sin preservativos.

**5. REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, CONDICIONES DE ENSAYO Y
DESARROLLO DE LA PRÁCTICA, TOMARLO DEL INSERTO DEL KIT**

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 19
“DETERMINACIÓN DE MAGNESIO
Método de Colorimétrico”
DURACION: 40 min.

1. INTRODUCCIÓN

El magnesio es el segundo catión más abundante intracelularmente, aproximadamente la mitad se localiza en huesos y la otra en tejidos suaves y eritrocitos. Hay una pequeña fracción de magnesio circulante, pero es a través del plasma que se transporta de los sitios de reserva (huesos) a tejidos, en caso necesario. Actúa como activador de enzimas, enlace entre ellas y como sustrato; participa también en la fosforilación oxidativa de la mitocondria. Hay hipomagnesemia en: diabetes, alcoholismo, embarazo, ingesta de anticonceptivos, algunos diuréticos, hipertiroidismo, síndrome de mala absorción, hiperalimentación, infarto al miocardio, insuficiencia cardiaca y cirrosis hepática. Hay hipermagnesemia: en insuficiencia renal, ingesta exagerada de antiácidos que contienen magnesio y en el abuso de magnesio.

2.OBJETIVOS

- iii. Determinar la concentración en una muestra biológica de magnesio utilizando el método de colorimétrico.
- iv. Destacar la importancia del ión magnesio en el metabolismo humano y su relación con diversas patologías.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El magnesio en soluciones alcalinas forma complejos de color rojo con la calgamita, un indicador metalocrómico. El ácido etilenglicoltretacético (EGTA) elimina la interferencia del calcio.

Escribir la Reacción:

4. METODOLOGÍA

4.1 Muestra biológica

Suero libre de hemólisis o plasma con heparina, no utilice EDTA, o agentes quelantes, oxalato o citrato.

Orina de 24 horas diluida 1/5 con agua destilada y acidificada con HCl para alcanzar un pH alrededor de 1.0.

4.2 REACTIVOS

Reactivo 1

2-metil-2-amino-1-propanol

EGTA

Reactivo 2

Calmagita

Estándar: magnesio 2 mg/dl, 20 mg/L, 824 umol/L

4.3. EQUIPO

Espectrofotómetro o fotocolorimétero.

Centrifuga.

Baño seco o Baño de agua a 37°C.

4.4 MATERIAL

Tubos de ensayo **de plástico** de 13 x 100 mm

Micropipetas de diversas capacidades

Puntas para micropipeta

Pipetas graduadas de 1, 2 y 5 ml

Gradilla.

5. REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, CONDICIONES DE ENSAYO Y DESARROLLO DE LA PRÁCTICA, TOMARLO DEL INSERTO DEL KIT

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 20
“DETERMINACIÓN DE SODIO
Método de Colorimétrico”
DURACION: 40 min.

1. INTRODUCCIÓN

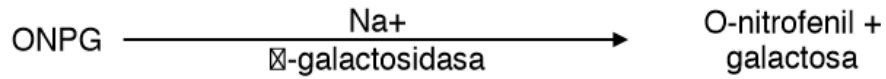
La prueba del sodio sérico es una medida del catión principal (electrolítico, carga positiva) en el espacio vascular, componente del líquido extracelular. Deberá considerarse una medida proporcional, la proporción entre sodio y agua, más que una medición directa del sodio corporal total. El sistema amortiguador del bicarbonato de sodio es uno de los principales controles reales de las concentraciones de iones hidrógeno, que convierten al sodio en un catión importante para la conservación del equilibrio ácido-básico corporal y también para la distribución del agua corporal. La hipernatremia significa un exceso de sodio en la sangre, esto se advierte cuando hay vómito profuso, succión nasogástrica, enfermedades infecciosas como traqueobronquitis, diarrea acuosa profusa, diabetes insípida, aldosteronismo primario, ingestión inadecuada de agua libre, alimentos con alto contenido de solutos. La hiponatremia significa una deficiencia sanguínea de sodio o una depleción de sal, que por lo general indica un aumento excesivo de agua respecto a la elevación del sodio; esto sucede en: diarrea o vómito donde se pierde más sodio que agua, drenado de fístulas intestinales, uso prolongado de diuréticos, enfermedad de Addison, insuficiencia renal crónica con acidosis, retención anormal de agua, ingestión excesiva de agua y restitución inadecuada de sal.

2. OBJETIVOS

- o Determinar la concentración en una muestra biológica de sodio utilizando el método de colorimétrico.
- o Destacar la importancia del ión sodio en el metabolismo humano y su relación con diversas patologías.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El sodio se determina enzimáticamente a través de la actividad de la β -galactosidasa dependiente de sodio con el ONPG como sustrato. La absorbancia a 405 nm del producto O-nitrofenil es proporcional a la concentración de sodio.



ONPG = o-nitrofenil- β -D-galactopiranososa

En individuos sanos, la concentración de sodio en el fluido extracelular está regulada entre 136-146 mmol/L (313-336 mg/dL). Las pequeñas desviaciones respecto a los niveles normales pueden tener repercusiones importantes para la salud. El sodio se utiliza para el diagnóstico y el tratamiento de pacientes con desórdenes metabólicos y cardiovasculares y la Asociación Americana de Química Clínica (AACC) defiende que la ausencia de control puede tener graves consecuencias para la salud. Precisamente por este motivo resulta tan importante controlar la concentración de sodio en suero, tanto en los controles rutinarios como en los quirófanos.

4. REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, CONDICIONES DE ENSAYO Y DESARROLLO DE LA PRÁCTICA, TOMARLO DEL INSERTO DEL KIT

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 21
“DETERMINACIÓN DE POTASIO
Método de Colorimétrico”
DURACION: 40 min.

1. INTRODUCCIÓN

El potasio es el catión principal del líquido intracelular. Un desequilibrio en el nivel de potasio tiene un efecto directo sobre la irritabilidad muscular, la función miocardiaca y la respiración.

La hiperpotasemia se define como una concentración plasmática mayor de 5.5 mEq/L. Con una función renal adecuada es virtualmente imposible permanecer en un estado de hiperpotasemia pues el potasio es excretado con suma facilidad por el riñón. Por tanto, un incremento significativo de potasio se encuentra principalmente en casos de insuficiencia renal grave con azoemia; también podría haber aumento con una administración desmedida de potasio si hay excreción urinaria inadecuada, con el uso excesivo de diuréticos antagonistas de la aldosterona.

La hipopotasemia se define como una concentración sérica menor de 3.5 mEq/L. Los síndromes de deficiencia de potasio son bastante comunes. Si esta deficiencia es grave, se producen cambios funcionales y estructurales renales en el riñón, los cuales perpetúan el desequilibrio hidroelectrolítico y acidobásico. Se tiene disminución de potasio en: estados diarreicos, pérdidas abundantes de líquidos gastrointestinales, diuresis masiva, pacientes postoperatorios con pérdidas múltiples de potasio, pacientes después de tratamiento de cetoacidosis diabética, respuesta a la tensión, falta de ingestión adecuada de potasio, síndrome de malabsorción donde el intestino no es capaz de absorber nutrientes.

2. OBJETIVOS

- o Determinar la concentración en una muestra biológica, de potasio utilizando el método de colorimétrico.
- o Destacar la importancia del ión potasio en el metabolismo humano y su relación con diversas patologías.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La determinación de potasio se lleva a cabo espectrofotométricamente con un sistema de ensayo cinético acoplado basado en una piruvato quinasa dependiente de potasio²⁻³. El piruvato generado se convierte en lactato que convierte NADH análogo en NAD análogo. La correspondiente disminución de la densidad óptica a 380 nm es proporcional a la concentración de potasio en suero.

4. REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, CONDICIONES DE ENSAYO Y DESARROLLO DE LA PRÁCTICA, TOMARLO DEL INSERTO DEL KIT

4.3. EQUIPO

Espectrofotómetro o fotocoloriméto.

Centrifuga.

Baño seco o Baño de agua a 37°C.

VALORACIÓN DE FUNCIÓN RENAL Y VÍAS URINARIAS

**FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 22
“EXAMEN GENERAL DE ORINA (EGO)”
DURACION: 1.5 HR.**

1. INTRODUCCIÓN

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

El análisis de orina húmedo o rutinario, proporciona, a costos razonables, un tamizaje adecuado para la detección de anormalidades químicas y morfológicas presentes en la orina. Este procedimiento se compone de dos partes: 1) un análisis macroscópico, en el cual se determinan las características fisicoquímicas (apariencia, gravedad específica y la medición de los constituyentes químicos por medio de la tira), y 2) un examen microscópico del sedimento, en campo claro o contraste de fases, para verificar hematuria, piuria, cilindruria, cristaluria, y otros signos. Por medio de este simple examen de orina, un uromicroscopista experimentado puede detectar y monitorear muchas entidades que afectan al riñón y al tracto urinario inferior.

2. OBJETIVOS

- b. Establecer el método adecuado de recolección de especímenes de orina.
- c. Conocer las propiedades físicas más importantes de la orina y sus relaciones con la enfermedad.
- d. Identificar los constituyentes químicos más importantes de la orina, como

cuantificarlos y como confirmar su presencia.

- e. Describir los hallazgos microscópicos más comunes en la orina y su relación con la enfermedad.

3. FUNDAMENTO

El análisis general de orina, se basa en un procedimiento que se compone de dos partes: 1) un análisis macroscópico, en el cual se determinan las características físicas y químicas de los constituyentes químicos por medio de la tira reactiva y 2) un examen microscópico del sedimento urinario.

4. METODOLOGÍA

4.1 Muestra biológica

El cuidado en la recolección de la orina y su entrega rápida en el laboratorio, son cruciales para obtener una información óptima:

- ❖ La orina debe ser colectada en un recipiente limpio, estéril, que tenga un cierre seguro para prevenir posibles derramamientos, evaporación o contaminación.
- ❖ Estos recipientes deben rotularse con el nombre del paciente, fecha y hora de recolección.
- ❖ Para que los datos del uroanálisis sean precisos, es esencial que la orina sea examinada dentro de las dos horas siguientes a su recolección o preservada de alguna manera, usualmente por refrigeración (2° a 8 ° C).

Se pueden usar fijadores o preservativos adecuados, siempre y cuando se entiendan claramente sus efectos sobre la orina y sobre los ensayos en ella realizados. Si la orina es recolectada sin preservativos y permanece a temperatura ambiente se empezará a descomponer. Los preservativos actúan impidiendo los cambios químicos asociados a la descomposición y previniendo el crecimiento y metabolismo de los microorganismos. El tolueno, fenol, timol y preservativos ácidos son usados frecuentemente para los análisis químicos de la orina. Otras formas de preservación incluyen el ajuste del pH y la protección de la luz. Para preservar las estructuras celulares puede emplearse etanol (95%), hay también disponibles fijadores comerciales como Mucolex. Las muestras deben estar libres de secreciones vaginales u otra clase de partículas extrañas. La recolección del chorro medio sin el lavado previo y sin usar un envase estéril, proporciona una muestra satisfactoria para el examen de rutina, sin embargo lo más conveniente es tomar la muestra de forma correcta.

4.2. REACTIVOS

Tiras reactivas para orina

Ácido nítrico concentrado

4.3 EQUIPO

Microscopio óptico.

Centrífuga clínica.

4.4 MATERIAL

Envases desechables para orina. Tubos
de ensayo de 13 x 100mm. Portaobjetos.

Cubreobjetos.

Pipetas serológicas graduadas de 10 ml. Pipetas

Pasteur.

Bulbos de goma.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. EXAMEN FÍSICO DE LA ORINA

Volumen.

El volumen urinario está influenciado por la ingesta de líquidos; por los solutos excretados, principalmente, sodio y urea; por la pérdida de fluidos en la transpiración y la respiración; y por el estado de los sistemas cardiovascular y renal. Normalmente un adulto excreta de 750 a 2000 mL en 24 horas. El volumen de orina de un espécimen recolectado al azar no tiene importancia clínica.

Olor.

Una orina normal fresca no tiene mal olor. Un olor desagradable, puede indicar que el espécimen es demasiado viejo para obtener un análisis preciso. Un olor fétido en un espécimen recolectado desde hace más de dos horas (y no preservado o refrigerado) indica que el espécimen es inadecuado. El olor puede también dar señales de ciertas anormalidades de la orina. Un olor parecido al amoníaco, es sugestivo de presencia de bacterias degradadoras de la urea, un olor a frutas indica la presencia de acetona (cetonas), un olor dulce es sugestivo de la presencia de glucosa u otros azúcares, un olor fétido es sugestivo de pus o inflamación.

Color

El color de la orina está determinado, en gran medida, por su grado de concentración. Las orinas normales varían ampliamente de colores, desde incoloras hasta amarillo oscuro. La interpretación del color es subjetiva y varía según el laboratorio que la examine. Para que el analista describa adecuadamente el color de la orina, puede emplear como puntos de referencia una escala estandarizada de colores, evitando el uso de términos ambiguos como pajizo o sangriento. La orina roja es, tal vez, la coloración de mayor importancia clínica. Este color puede ser producido por hemoglobina urinaria o mioglobina, eritrocitos intactos, eritrocitos hemolisados, o hemoglobina libre (hemólisis). En la glomerulonefritis aguda el color característico de la orina es pardo rojizo. Normalmente una orina fresca es clara.

Aspecto

La orina recién emitida es clara o transparente, conforme la orina se deja reposar, se precipitan cristales amorfos, generalmente uratos, produciendo turbidez. La turbidez de la orina debe ser registrada y explicada mediante la evaluación microscópica como límpida o clara, turbia o muy turbia.

Gravedad específica.

La gravedad específica de la orina es una medida parcial de la capacidad del riñón para concentrar orina. Su rango normal es de 1.003 a 1.035 g/mL. Los valores iguales o superiores a 1.020 indican una buena función renal y la excreción de una cantidad aumentada de solutos disueltos excretados por los riñones. Valores de densidad específica iguales o superiores a 1.035 indican la presencia de solutos extraños, lo cual debe ser investigado. Una disminución de la gravedad específica se observa en pacientes que usan diuréticos. Cuando se presentan niveles elevados de glucosa o proteínas, es necesario aplicar factores de corrección para ajustar la gravedad específica a un valor más representativo; se debe restar 0.004 por cada 10 g/l de glucosa y 0.003 por cada 10 g/l de proteína. Valores de 1.040 o superiores están asociados con la presencia de medios de contraste radiográficos o preservativos.

La mayoría de los laboratorios poseen refractómetros que relacionan la densidad de una solución con la gravedad específica. El uso de estos refractómetros tiene algunas ventajas: 1) requieren solo una o dos gotas de orina; 2) tienen la temperatura compensada; 3) las lecturas están menos afectadas por la densidad que las de los urinómetros; y 4) poseen un tornillo para calibrar a cero. Las tiras reactivas disponen de un método colorimétrico indirecto para medir la gravedad

específica. Este método usa una tira que contiene un electrolito pre-tratado que muestra un cambio de pH de acuerdo a la concentración iónica de la orina. Este ensayo es rápido, sencillo y no requiere equipos adicionales.

5.2. EXAMEN QUÍMICO DE LA ORINA

Análisis por tira reactiva

Los análisis por tira reactiva han permitido a los laboratorios producir resultados químicos semicuantitativos de una manera rápida, exacta y eficiente. En general, los análisis de orina adecuadamente realizados por medio de tiras reactivas, son sensibles, específicos y económicos. Los análisis realizados por medio de tiras reactivas deben efectuarse en orinas bien mezcladas y equilibradas a la temperatura ambiente. Cada parámetro químico debe ser evaluado en un intervalo de tiempo específico, de acuerdo a lo indicado en las instrucciones del fabricante. Deben tomarse del envase, solamente el número de tiras requerido para los análisis inmediatos y el envase debe taparse nuevamente asegurando que la tapa quede bien ajustada. Las tiras reactivas deben ser almacenadas en un lugar fresco (no refrigeradas). El medio ambiente debe estar libre de humedad. Nunca se deben usar tiras para orina caducadas o expuestas al aire.

Después de sumergir la tira reactiva en la orina, se debe remover el exceso de orina golpeando la tira suavemente en el borde del recipiente que contiene el espécimen. Se debe comparar individualmente la reacción de cada zona reactiva con su correspondiente en la carta de colores, bajo una iluminación adecuada. Los resultados positivos de las tiras reactivas pueden requerir confirmaciones por métodos químicos y microscópicos. La información proporcionada por los fabricantes debe ser revisada para identificar fuentes de inhibidores y resultados falsos positivos y negativos.

pH Urinario.

Aunque el método estándar para la medición del pH emplea electrodos de vidrio, el pH urinario, usualmente, es medido con indicador de papel, debido al hecho de que pequeños cambios en el pH son de poca importancia clínica. La mayoría de los laboratorios de uroanálisis emplean tiras reactivas multitest con dos indicadores, rojo de metilo y azul de bromotimol. Estos indicadores proporcionan un rango de pH de 5.0 a 9.0, el cual se manifiesta por un cambio de color de naranja (ácido) a verde y azul (alcalino). El rango de pH urinario es 4.7 a 7.8. Las muestras de orina extremadamente ácidas o alcalinas, usualmente indican especímenes mal recolectados.

El pH es importante para el manejo clínico de las piedras o cristales. Un pH alcalino refleja una

alimentación rica en vegetales y un pH ácido una alimentación rica en carnes.

Proteínas.

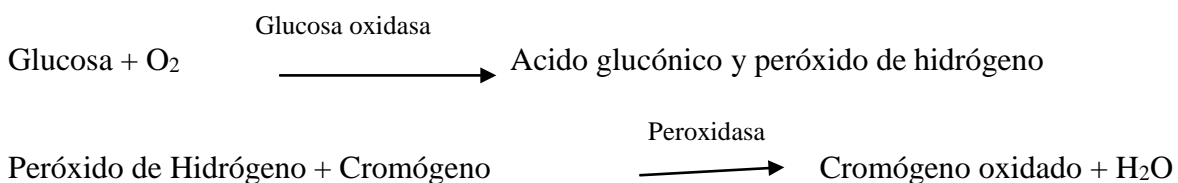
Las personas sanas pueden tener una excreción diaria de proteínas de 100 mg/día, una fracción muy pequeña del contenido de proteínas plasmáticas. La mayoría de la proteína en la orina es albúmina que pasa la membrana glomerular, pero también pueden estar presentes proteínas de peso molecular pequeño como las globulinas. Una vez filtradas las proteínas son casi completamente reabsorbidas en el túbulo proximal. La proteinuria, por lo tanto, puede ser el resultado tanto de un incremento en la filtración como de una disminución en la reabsorción (función tubular).

Las tiras reactivas son un procedimiento de tamizaje para la proteinuria. Como la especificidad de las tiras reactivas está limitada a la detección de albúmina, es altamente recomendable que el laboratorio procese simultáneamente una prueba por tira reactiva y una prueba de precipitación por ácido para la detección de todos los tipos de proteínas. Las tiras reactivas son sensibles al pH y dependen de la presencia de proteínas para la generación de color. La presencia de la proteína en la tira cambia el pH del medio de contraste impregnado en la zona reactiva, Proteína pH 3: Azul de tetrabromofenol. Resultados negativos (amarillo) Sin proteína. Un resultado positivo o débilmente positivo debe ser confirmado por otros métodos más específicos como el ácido tricloroacético o el ácido sulfosalicílico o el ácido nítrico. Un resultado débilmente positivo y uno fuertemente positivo puede indicar la presencia de fármacos o proteínas de Bence Jones.

Glucosa

1. Ensayos enzimáticos.

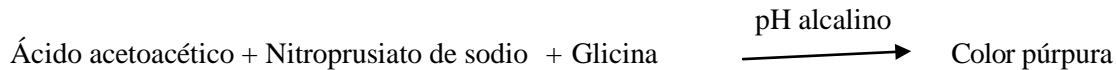
El ensayo de la tira reactiva es un excelente análisis específico para glucosa. Detecta la oxidación de la glucosa a ácido glucónico:



Cetonas.

El término cuerpos cetónicos incluye tres componentes químicos diferentes pero muy relacionados: ácido acetoacético, ácido beta hidroxibutírico y acetona. Los ensayos realizados

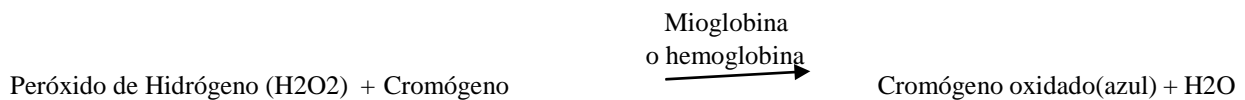
por medio de tiras reactivas emplean la reacción de nitroprusiato de sodio que detecta acetona y ácido acetoacético pero no beta hidroxibutírico. Es importante saber que el reactivo de nitroprusiato de sodio reacciona principalmente con el ácido acetoacético; la acetona tiene solo un 20% de reactividad comparada con el ácido acetoacético:



La determinación de cetonas es importante en el monitoreo de la diabetes y de la cetoacidosis y debe realizarse siempre que se determinen azúcares.

Sangre y mioglobina.

Una orina roja indica usualmente la presencia de eritrocitos, hemoglobina o mioglobina. La hematuria, a menudo, representa una combinación de eritrocitos intactos (más de 5 por campo de alto poder), eritrocitos fragmentados y hemoglobina libre. La hematuria gruesa o macroscópica implica hemorragia o sangrado fresco, lo que en un medio de orina ácida, da como resultado una apariencia de roja a parda, turbia, o ahumada. El método empleado por la tira reactiva para determinar hemoglobina o mioglobina se fundamenta en una actividad semejante a la de las peroxidasas:



Un ensayo positivo indica la presencia de hematuria, hemoglobinuria o mioglobinuria, siendo necesario un análisis microscópico para confirmar la presencia de eritrocitos. La presencia en la orina de agentes oxidantes como los yoduros y bromuros, puede causar resultados falsos positivos; grandes cantidades de ácido ascórbico (usado en algunos antibióticos) pueden producir resultados falsos positivos en algunas tiras reactivas. La mioglobina es una porfirina ferrosa similar a la hemoglobina; se encuentra, comúnmente, en la orina en pacientes con traumas severos que involucran destrucción muscular. Cuando la mioglobina es liberada a la circulación, es rápidamente excretada por el riñón. Al igual que la hemoglobina, su presencia producirá orinas de apariencia rosada a roja.

Bilirrubina.

Orinas espumosas, de color amarillo a pardo, u oscuras son sugestivas de la presencia de bilirrubina conjugada. La orina normal no contiene bilirrubina. Los pacientes ictericos con

enfermedad hepatocelular como hepatitis o enfermedad obstructiva como cirrosis biliar pueden tener bilirrubina conjugada en la orina. El método empleado por las tiras reactivas para determinar bilirrubina se basa en la reacción de diazoación.



Los resultados negativos de orinas sospechosas y los resultados positivos cuestionables provenientes de orinas coloreadas, deben ser confirmados empleando tabletas de Ictotest (Ames Division, Miles Laboratories). El Ictotest emplea la misma reacción de diazoación que las tiras reactivas. Se pueden encontrar resultados falsos negativos, en orinas no frescas porque la bilirrubina urinaria puede hidrolizarse u oxidarse por acción de la luz.

Urobilinógeno.

El urobilinógeno es un compuesto coloreado, resultado de la reducción de la bilirrubina por acción de las bacterias en el intestino. Las orinas normales contienen pequeñas cantidades de urobilinógeno. El urobilinógeno se encuentra disminuido en niños deficientes en bacterias intestinales; en pacientes después de la administración de antibióticos que reducen la flora intestinal, y en pacientes con enfermedades obstructivas hepáticas. Se encuentra un aumento del urobilinógeno en pacientes con anemias hemolíticas (aumento de formación de bilirrubina) y disfunción hepática. El método empleado por las tiras reactivas para la determinación del urobilinógeno varía según el fabricante. Algunos emplean la reacción de Erlich, usando p-dimetilaminobenzaldehído en una reacción simple de color con el porfobilinógeno. Esta reacción no es específica para urobilinógeno, pudiéndose encontrar resultados falsos positivos con otros compuestos que también reaccionan con el reactivo de Ehrlich. Otros emplean una reacción específica para el urobilinógeno: el urobilinógeno reacciona con un compuesto de diazonio produciéndose un color rojo. Para la determinación del urobilinógeno es necesario un espécimen fresco porque el compuesto es sensible a la luz. El espécimen preferido para la determinación cuantitativa del urobilinógeno urinario es una orina recolectada durante las dos primeras horas de la tarde. Este tiempo de recolección se debe a los patrones de excreción diurna del urobilinógeno.

Nitritos.

El ensayo de nitritos es empleado en los laboratorios de uroanálisis para detectar bacteriuria. El método empleado en las tiras reactivas para determinar nitritos se basa en la reducción de nitratos a nitritos por la acción enzimática de ciertas bacterias presentes en la orina. En un pH ácido los

nitritos reaccionan con el ácido p-arsanílico formando un compuesto de diazonio, el cual a su vez reacciona con N-(1-naftil) etiléndiamina produciendo un color rojo. El ensayo de nitritos debe ser realizado en especímenes recolectados en la primera orina de la mañana o en una muestra de orina que haya sido recolectada después de 4 horas o más, a partir de la última evacuación de la vejiga, con el fin de permitir que durante este tiempo los microorganismos metabolicen el nitrato dentro de la vejiga. En orinas pasadas o viejas, el ensayo de nitritos puede ser positivo como resultado de la contaminación con bacterias después de la micción. La prueba de nitritos es específica para organismos gram negativos, sin embargo, se pueden obtener resultados falsos negativos si están presentes microorganismos como enterococos, estreptococos o estafilococos.

Esterasa leucocitaria.

La presencia de leucocitos (piuria) es un indicador de inflamación clínicamente importante. El método empleado para la determinación de leucocitos intactos y lisados en las tiras de orina está basado en la presencia de esterases intracelulares. Estas enzimas catalizan la hidrólisis de los ésteres, liberando componentes que son luego empleados en una reacción de color. La intensidad de la reacción de color es directamente proporcional a la cantidad de leucocitos presentes en el espécimen. La presencia de tricomonas y agentes oxidantes pueden producir falsos positivos.

Melanina.

Las orinas normales no contienen melanina. La melanina se encuentra en orinas de pacientes con melanoma maligno. Los pacientes con esta neoplasia maligna excretan precursores incoloros de melanina (melanógenos), los cuales al ser expuestos al aire se polimerizan formando un pigmento oscuro de melanina. Los análisis para tamizaje emplean cloruro férrico que oxida los melanógenos a melanina, la cual vuelve la orina a un color pardo oscuro.

5.3. EXAMEN MICROSCÓPICO DE ORINA

Una identificación microscópica precisa del sedimento urinario es importante para el reconocimiento temprano de infecciones, procesos inflamatorios, y neoplasias que pueden afectar el tracto urinario.

Microscopía de campo claro de una orina no teñida.

La microscopía de campo claro no coloreada emplea luz reducida para delinear los elementos

más translúcidos de la orina, como, cilindros hialinos, cristales y filamentos de moco. La identificación precisa de leucocitos, macrófagos, células del epitelio tubular renal, y células que contienen inclusiones virales puede ser muy difícil en preparaciones no coloreadas. Para confirmar los resultados deben emplearse técnicas citológicas y preparaciones teñidas.

Procedimiento

La orina debe examinarse mientras esté fresca, algunas células y cilindros pueden desintegrarse en un lapso de una a tres horas. La refrigeración de 2° a 8°C por 48 horas, usualmente previene la desintegración de las células y entidades patológicas. Con propósitos de estandarización, cada espécimen de orina debe concentrarse de diez a veinte veces. El examen se realiza de la siguiente manera:

1. Mezcle bien el espécimen.
2. Ponga un volumen fijo (10, 12, ó 15 mL) de orina en un tubo de centrífuga
3. Centrifugue a 1500 rpm o aproximadamente 80 G por 5 minutos.
4. Extraiga el sobrenadante por decantación cuidadosa o aspiración hasta un volumen fijo: 1ml y 0.4 mL, son los más comunes. Resuspenda el sedimento golpeando suavemente en el fondo del tubo.
5. Ponga una gota el sedimento resuspendido en un área de una lámina estandarizada.
6. Examine con bajo poder (10x) y luz atenuada. Ajuste el enfoque fino permanentemente mientras se explora al azar el área cubierta. Durante la revisión evalúe el espécimen en busca de células epiteliales transicionales y escamosas, cristales, moco, bacterias, levaduras y artefactos. Elabore el reporte de acuerdo a los protocolos del laboratorio. La identificación posterior de cilindros, células epiteliales renales, eritrocitos y leucocitos debe ser refinada empleando el objetivo de 40x.
7. Examine, al menos, diez campos empleando luz tenue. Asegúrese de examinar los bordes porque a menudo los cilindros se encuentran a lo largo de los bordes del cubre objeto. Los cristales anormales, cuando están presentes, deben contarse con el objetivo de bajo poder. Una bacteriuria visible en bajo poder debe ser reportada, por lo menos, con 2+.
8. Examine, al menos, diez campos con alto poder (40x) y reporte con valores numéricos (1x campo, 10 por campo, etc) eritrocitos, leucocitos, y células del epitelio tubular renal.
9. Reporte todos los conteos (promedio de 10 campos) y evalúe cualitativamente de acuerdo a la terminología estandarizada.

Cristales.

Los cristales urinarios son vistos comúnmente. Usualmente los cristales no están presentes en orinas frescas recién obtenidas y en general, la formación de los cristales es considerada como un artefacto del sistema de recolección. Los cristales se forman cuando varios constituyentes químicos llegan a saturarse o sufren un cambio en su solubilidad, cuando la orina es almacenada a temperaturas más bajas. Ciertas sustancias químicas, como la albúmina, previenen la cristalización. Cuando la orina se calienta a 37 °C, la mayoría de los cristales desaparecen. Aquellos cristales que todavía permanecen, tienen importancia diagnóstica, cuando se correlacionan con síntomas clínicos.

Los tipos de cristales urinarios dependen del pH de la orina fresca. La cistina, ácido úrico, leucina, y tirosina son los cristales de mayor importancia diagnóstica y por tanto deben ser identificados. En general los cristales de orinas ácidas son de: ácido úrico, oxalato de calcio, uratos amorfos, urato de sodio, cistina, leucina, tirosina, colesterol. Los cristales de orinas alcalinas son de: fosfato triple, fosfato amorfo, fosfato de calcio, urato de amonio.

Organismos.

En un espécimen de orina bien recolectado y procesado, la presencia de organismos es importante desde el punto de vista clínico. Se reportan, frecuentemente, bacterias, hongos, parásitos, y células infectadas con virus. Con la microscopía de campo claro se detectan fácilmente bacterias, hongos y parásitos. La identificación exacta de los organismos ayuda en el diagnóstico clínico diferencial de infecciones del sistema urinario. Las preparaciones coloreadas son importantes en la evaluación de organismos, identificación de células inflamatorias asociadas, en la valoración de la exfoliación epitelial, y en la formación de cilindros renales con el fin de identificar su localización. Se deben emplear técnicas microbiológicas para confirmar y clasificar completamente algunos organismos urinarios.

Bacterias.

La orina de individuos normales es estéril y no contiene bacterias. Algunas bacterias pueden estar presentes por contaminación durante la recolección o por almacenamiento prolongado. Se puede determinar una concentración de menos de 10³ bacterias/mL, cuando se han visto bacterias en un espécimen de orina centrifugado pero no en el espécimen sin centrifugar. La presencia de bacterias en un espécimen sin centrifugar indica que hay una concentración mayor

de 103 bacterias/mL. La presencia de 105 bacterias/ml o más sugiere una infección de tracto urinario. Este número corresponde a 10 o más bacterias por campo de alto poder (40x). La identificación de bacterias, cocos o bacilos puede hacerse por microscopía de campo claro o por contraste de fases. Ocasionalmente hay dificultad en diferenciar bacterias de cristales amorfos.

Hongos.

Las infecciones del tracto urinario (ITU) producidas por hongos son comunes en pacientes diabéticos, en aquellos que toman medicamentos desde el nacimiento, o en aquellos que han recibido terapia intensiva con antibióticos o terapia inmunosupresora. En la mayoría de las ITUs de pacientes no inmunocomprometidos, se ha observado un patrón inflamatorio asociado. *Candida albicans* es el hongo más común, identificándose como levadura o micelio. En general, la apariencia de gemación de levadura indica que el hongo ha coexistido con el huésped, mientras que la forma micelar aparece durante la invasión al tejido. Las levaduras de *Candida albicans* son altamente retractiles y miden de 3 a 5 µm. Suelen ser confundidas con eritrocitos. A diferencia de los eritrocitos, las levaduras no son lisadas por ácidos.

Parásitos.

La presencia de parásitos en la orina indica contaminación fecal o vaginal. La *Trichomona vaginalis*, un flagelado, es el parásito que más comúnmente se observa en la orina. La incidencia de este tipo de parásito en mujeres es muy alta pudiendo producir vaginitis severa. En el hombre, el parásito causa una uretritis asintomática. Debido a la motilidad de este organismo oval, la microscopía de campo claro es empleada como la forma más sencilla y rápida de identificación. Los tricomónidos inmóviles pueden ser confundidos con leucocitos o células epiteliales.

Se han encontrado huevos de helmintos (*Enterovius vermicularis*) en la orina de niños por contaminación fecal. Morfológicamente un huevo de helmineto está rodeado por una cápsula con dos capas, transparente y delgada, pudiéndose ver, enrollado dentro de ella, un embrión. En la orina, también pueden encontrarse huevos de trematodos.

Con una frecuencia cada vez mayor, se encuentran cambios celulares inducidos por virus en el sedimento de orina de pacientes inmunocomprometidos. Se deben emplear técnicas citológicas para asegurar la identificación de citomegalovirus, herpes simplex y Polyomavirus, los cuales producen células con inclusiones intranucleares diagnósticas, siendo estas las infecciones virales

más comunes del sistema urinario. Las células de inclusión viral deben distinguirse de las células de inclusión provenientes de fuentes no virales, como la exposición a metales pesados (plomo y cadmio) y de cambios celulares degenerativos no específicos.

Eritrocitos.

Una orina normal, examinada con objetivo de alto aumento, no debe contener más de unos cuantos eritrocitos. Estas células aparecen en la orina después de lesiones vasculares o trastornos del riñón o del tracto urinario inferior. La presencia de eritrocitos acompañada de cilindros hemáticos o eritrocitos dismórficos es sugestiva de sangrado del parénquima renal o del glomérulo. La detección urinaria de eritrocitos dismórficos, especialmente acantocitos, es un marcador morfológico importante de sangrado glomerular o tubular. Su cuantificación ayuda en el diagnóstico y manejo del paciente. Cuando se examinen orinas de mujeres, es importante evitar la contaminación con sangre menstrual.

Los eritrocitos miden, aproximadamente, 7 μm de diámetro, tienen forma de discos biconcavos los cuales aparecen de un color amarillo pálido cuando se examinan bajo microscopía de campo claro. En ocasiones, las tiras reactivas pueden detectar hemoglobina en ausencia de eritrocitos en el examen microscópico. Una posible explicación de esta discrepancia es la presencia de orinas alcalinas o hipotónicas, ambas pueden causar lisis de los eritrocitos. En ausencia de estas condiciones, es muy sugestivo que el pigmento que aparece en la orina (puede ser hemoglobina o mioglobina) se origine por filtración desde la sangre.

Leucocitos.

La velocidad de excreción normal de eritrocitos en la orina es de 1 leucocito por cada 3 campos con objetivo de alto aumento, 3000 células/mL, o más de 200,000 células/hora. Un elevado número de leucocitos (piuria) está asociado a numerosos procesos inflamatorios e infecciosos del tracto urinario. La mayoría de los leucocitos vistos por microscopía de campo claro son neutrófilos segmentados. La identificación de linfocitos, células plasmáticas, y eosinófilos requiere de coloraciones especiales. Se ha mostrado que una velocidad de excreción en exceso de 400,000 células/hora siempre indica una infección del tracto urinario. Esta velocidad corresponde a más de 10 neutrófilos por campo de alto poder. Los pacientes con infecciones activas del tracto urinario superior tienen, frecuentemente, más de 50 neutrófilos por campo de alto poder o una velocidad de excreción de leucocitos que excede 2 o aún 3 millones/hora.

Células del epitelio tubular renal.

En el nefrón están alineados varios tipos de células del epitelio tubular renal y las células enfermas o viejas están constantemente siendo arrojadas a la orina. Aunque ellas representan la exfoliación renal real, la presencia de más de dos células del epitelio tubular renal por campo de alto aumento indican daño o lesión activa de los túbulos renales. Hay grandes dificultades en la identificación precisa de las células de los túbulos renales, especialmente, para diferenciarlas de las células mononucleares comúnmente encontradas en la orina. Por microscopía de campo claro, las células tubulares renales son poligonales y de tamaño ligeramente menor que los leucocitos.

Células epiteliales de transición.

En la orina normal se pueden encontrar unas pocas células de transición (uroteliales). Un gran número de células transicionales puede indicar procesos inflamatorios de la vejiga, cateterización o estados patológicos malignos. Por microscopía de campo claro, las células transicionales aparecen redondas u ovaladas, miden de 40 a 60 μm , y tienen un núcleo localizado centralmente. Los bordes citoplásmicos de esas células aparecen engrosados y rígidos. Cuando los núcleos de las células transicionales llegan a agrandarse o a tornarse irregulares, se recomienda emplear técnicas citológicas con el fin de detectar enfermedades malignas del sistema urinario.

Células epiteliales escamosas.

Las células epiteliales escamosas se alinean en la porción distal del tracto urinario inferior y en el tracto genital femenino. Las células escamosas son las células más grandes encontradas en la orina. Tienen un citoplasma grande y plano con un núcleo pequeño. Frecuentemente, una o más hileras de esas células pueden plegarse. La presencia de células escamosas en la orina usualmente indica contaminación (vaginal, en mujeres y uretral en hombres no circuncidados) o metaplasia escamosa de la vejiga, y representan el tipo menos importante de células epiteliales encontradas en la orina.

Células caudales

Son menores que las escamosas y poseen un apéndice en forma de cola. Proceden de la pelvis renal o cuello vesical.

Cuerpos grasos ovales.

Los cuerpos grasos ovales son células del epitelio tubular renal que están llenas de lípidos absorbidos o que han sufrido cambios degenerativos celulares. A menudo los cuerpos grasos ovales son asociados con proteinuria y lipiduria y son característicos del síndrome nefrótico y diabetes mellitus.

Espermatozoides.

Los espermatozoides pueden ser fácilmente reconocidos en la orina de un hombre después de la eyaculación o en la orina de una mujer por contaminación vaginal después del coito. Su identificación es de limitada importancia clínica y la presencia de espermatozoides, generalmente, no es reportada.

Cilindros renales.

Los cilindros renales (urinarios) son estructuras cilíndricas que se organizan en el nefrón y su importancia proviene de su localización. Están formados por uromucoide (mucoproteína de Tamm-Horsfall), que está siempre presente en la orina, usualmente en suspensión. Este uromucoide es producido por las células del epitelio tubular renal de la sección ascendente del asa de Henle. Los cilindros se forman como consecuencia del estancamiento de la orina y de la precipitación del uromucoide. El incremento en la concentración de proteínas, sales, y un pH urinario bajo son algunos de los factores que contribuyen a su formación. Debido a que la precipitación de esta proteína depende de la concentración y composición de la orina, los cilindros se forman más fácilmente en la porción distal del nefrón y en los ductos colectores del riñón, donde la orina es más concentrada. En pacientes con proteína de Bence Jones (mieloma múltiple), los cilindros pueden formarse en los túbulos convolucionados proximales.

Estas formaciones cilíndricas presentes en la orina reflejan las formas (largas o cortas) y diámetros (delgados y gruesos) de los lúmenes de los túbulos renales en donde se formaron. Su número y propiedades cuantificables aportan valiosos indicios sobre la naturaleza de la enfermedad del parénquima renal. Microscópicamente, los cilindros se caracterizan por la apariencia de su matriz (hialina, granular, cética), por los constituyentes celulares (eritrocitos, leucocitos, o células del epitelio tubular renal) o por el tipo de material particulado embebido en la matriz (gránulos finos, gruesos o fibrina).

La identificación exacta de los cilindros, especialmente de los tipos celulares, es difícil cuando

se hace en preparaciones húmedas no coloreadas visualizadas en microscopios bajo la luz directa o campo claro. Se necesita un microscopista hábil para evitar las interpretaciones erróneas. La visualización de los cilindros mejora con el empleo de microscopios con contraste de fases, de filtros de contraste o coloraciones especiales.

De manera general los cilindros se clasifican en: cilindros hialinos, epiteliales, hemáticos, leucocitarios, céreos, bacterianos, grasos, pseudocilindros y cilindroides.

Grasas.

Las grasas se encuentran en la orina de pacientes quienes han presentado embolismo graso después de lesiones severas con aplastamiento óseo, degeneración grasa del riñón o síndrome nefrótico. La grasa aparecerá en la superficie de la orina recolectada en la última parte de la micción. En el sedimento urinario se pueden encontrar células epiteliales vacuoladas. La identificación de las gotas de grasa se facilita empleando coloraciones especiales para grasa como Oil Red O o Sudán III.

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 23
“DEPURACION DE CREATININA”
DURACION: 1 HR.

1. INTRODUCCIÓN

El riñón es el órgano vital para mantener la homeostasis interna, el equilibrio hidroelectrolítico y el ácido-base, la presión arterial, el metabolismo de proteínas, purinas, calcio y fósforo y la producción de eritropoyetina; también interviene en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y de varias hormonas y oligoelementos, mediante múltiples procesos fisiológicos que se reflejan en la producción de orina en el periodo de 24 horas a través de la hemodinámica renal, cuyo parámetro fundamental es la filtración glomerular—valores normales de 120 ± 15 mL/minuto (10 % menor en la mujer)—; sus niveles determinan las clasificaciones del grado o estadio de la insuficiencia renal crónica. La filtración glomerular decae con los años: en los adultos de más de 60 años se espera 50 % (60 mL/minuto) del parámetro de referencia. Ante un trasplante renal de riñón único, tanto en el receptor como en el donante vivo se espera un nivel similar, que sería el límite entre suficiencia e insuficiencia.

La elevación en sangre de la creatinina es un indicador de insuficiencia renal crónica: una elevación menor representa un decremento importante de la filtración glomerular, sobre todo en las etapas intermedias, es decir, la elevación de 2 a 4 mg/dL de creatinina sérica manifiesta una pérdida de más de 8 mL/minuto de filtración glomerular, lo cual es de mal pronóstico. Hay que señalar que ésta no se recupera una vez instalada la insuficiencia renal crónica sino que va en constante descenso, de ahí que se habla de la reciprocidad de la creatinina, que se extrapola con el tiempo (meses). La enfermedad renal progresiva crónica es paralela a la fibrosis renal y a la disminución del tamaño de los riñones. Por debajo de 30 mL/minuto se inician los síntomas propios del estado urémico que puede evolucionar a—coma urémico y a muerte, a menos que el paciente ingrese a un programa de diálisis crónica o reciba un trasplante renal, que se indican cuando la filtración glomerular tiene valor por abajo de 5 a 10 % de los niveles normales.

Existen diversas técnicas de laboratorio para dicha medición: inicialmente se utilizaba la llamada hemodinámica renal mediante la infusión y medición de la inulina, ahora en desuso; después se introdujeron técnicas de radioisótopos precisos, cuya realización requiere personal capacitado y experimentado en interpretar la información que se obtiene con el gammagrama renal, así sea

con el equipo más moderno. En los últimos años se ha puesto en práctica, con resultados aceptables, la valoración de la cistatina C y del iohexol, si bien en nuestro país esta última es una técnica poco difundida y costosa hasta el momento. Lo anterior nos lleva a reconocer y aceptar que la técnica más apropiada, confiable, sin limitaciones técnicas y económica es medir la filtración glomerular mediante la depuración de creatinina en orina de 24 horas, cuya principal indicación es que el paciente conozca el procedimiento y coopere en coleccionar correctamente la orina. La depuración de creatinina es una prueba para medir la función glomerular, debido a que la creatinina formada de forma endógena en el músculo se libera a la circulación de una forma muy constante, es removida por el riñón casi exclusivamente por filtración glomerular (con una cantidad muy pequeña de filtración tubular). La función de esta prueba es detectar una lesión renal de preferencia en las primeras etapas del curso del trastorno, localizar el sitio de la lesión y cuantificar el grado de los daños.

2. OBJETIVOS

- Conocer la fundamentación para la determinación de las pruebas de función renal
- Conocer el método de depuración de creatinina y su cálculo
- Relacionar el resultado con el estado renal del paciente

3. FUNDAMENTO

La medición de la filtración glomerular indica el grado de funcionalidad del sistema renal. No obstante el desarrollo de nuevas tecnologías, en la mayoría de los países, la técnica más apropiada y aceptada para medir la filtración glomerular es la depuración de creatinina en orina de 24 horas, que tiene la ventaja de ser confiable, fácil de reproducir, no tiene limitaciones técnicas y, sobre todo, es económica.

4. METODOLOGÍA

4.1. Muestra biológica

1. El día que se inicie la colección de la orina se debe eliminar la primera orina.
2. Reunir la orina en un recipiente (plástico, vidrio, etcétera) limpio y seco.
3. Colectar toda la orina del día (tarde y noche) sin excepción. En caso de que se olvide alguna muestra, suspender e iniciar al siguiente día.
4. Se debe incluir la primera orina del siguiente día y acudir al laboratorio en ayuno.

4.2 Material

1 Micropipeta de 1,000 µL

1 Micropipeta de 200 µL.

1 Piseta con agua desionizada o destilada 2 Celdas de plástico de 3 ml

5 Tubos de vidrio de 13X100

Puntas para micropipeta Gradilla.

4.4. Equipo

Espectrofotómetro o Fotómetro termostable a 37°C con filtro de 490-510 nm.

Centrífuga

Incubadora de agua o seca a 37°C

4.5. Reactivos

Utilizar el Kit de reactivos para creatinina por el método colorimétrico de Jaffé.

4.6. Cálculos

El enfermo tiene que llevar la orina al laboratorio personalmente en ayuno para que, además, se le tome una muestra de sangre que mida la creatinina sérica. Con la orina colectada se toma una alícuota y se dosifica la concentración de creatinina en orina y mediante la siguiente fórmula se obtiene la filtración glomerular:

$$\text{Depuración de creatinina} = \frac{U \times V}{P}$$

Donde:

U = creatinina en orina (mg/dL).

P = creatinina en plasma (mg/dL).

V = volumen urinario (mL/minuto), que se obtiene de dividir el volumen urinario colectado entre 1440 (no olvidar que los riñones en condiciones normales producen 1 mL de orina por minuto y el día completo tiene 1440 minutos).

Ejemplo:

$$\frac{60 \text{ mg/dL} \times 1 \text{ mL/minuto}}{2.0 \text{ mg/dL}} = 30 \text{ mL/minuto}$$

Fórmula que toma en cuenta la superficie corporal:

La fórmula para calcular el aclaramiento es:

$$UCr \text{ (mg/dl)} \times Vu \text{ (ml)} \times 1,73 / SCr \text{ (mg/dl)} \times 1440 \times S$$

Con lo que se obtiene la filtración glomerular en mililitros/minuto.

- **ACr** es aclaramiento de creatinina.
- **UCr** es creatinina en orina.
- **Vu** es volumen de orina.
- **SCr** es creatinina en suero.
- **S** es superficie corporal. $S = (P \times T)^{0,5} / 60$ Los valores

normales están entre 88 y 128 ml/min. **Estimación usando la**

fórmula Cockcroft-Gault

La fórmula Cockcroft-Gault puede emplearse para estimar el aclaramiento de creatinina, que a su vez estima el IFG:

$$\text{Aclaramiento creatinina} = \frac{(140 - \text{Edad}) \times \text{Peso (en kilogramos)}}{72 \times \text{Creatinina en plasma (en mg/dl)}} \times 0,85 \text{ si es mujer}$$

4.7. Intervalo de referencia

En los hombres, el índice normal de depuración de creatinina es 97 a 137 mL/min. En las mujeres es de 88 a 128 mL/min

4.8. Resultado

4.9. SIGNIFICADO CLINICO

Los estadios tempranos de la enfermedad renal crónica son silenciosos, y solamente pueden ser detectados por los exámenes de laboratorio. La evaluación de la enfermedad renal crónica depende del nivel actual de la función renal. La velocidad de filtración glomerular es considerada la prueba standard de oro para identificar el nivel de función renal tanto en individuos sanos como afectados.

Los estadios de la enfermedad renal crónica de acuerdo a la velocidad de filtración glomerular son:

- Estadio 1: normal= velocidad de filtración glomerular $>$ o igual a 90 mL/min/1,73m².
- Estadio 2: daño renal leve = 60-89 mL/min/1,73m².
- Estadio 3: daño moderado = 30-59 mL/min/1,73m²
- Estadio 4: daño severo = 15-29 mL/min/1,73m²
- Estadio 5: falla renal= $<$ 15 mL/min/1,73m²

La velocidad de filtración glomerular es una medición directa de la capacidad de filtración glomerular; la VFG disminuye en los pacientes glomerulopáticos con aumento en la proteinuria y disminuye en los pacientes con proteinuria baja. La velocidad de filtración declina alrededor del 10% por década después de los 50 años de edad. Algunos pacientes con una significativa velocidad de filtración tienen un ligero aumento de la creatinina sérica. La depuración está calculada en base a la superficie de área del paciente. El porcentaje de error estimado en la determinación de la depuración utilizando orina de 24 horas está entre el 10-15%.

PRUEBAS DE FUNCIÓN HEPÁTICA Y VÍAS BILIARES

1. INTRODUCCIÓN

El hígado es el órgano principal que se encarga del metabolismo de los carbohidratos, proteínas, lípidos, porfirinas y ácidos biliares. Es capaz de sintetizar la mayoría de las proteínas del cuerpo con excepción de las inmunoglobulinas, producidas por el sistema de las células plasmáticas y linfocitos B de memoria. El hígado es también el sitio principal para el almacenamiento del hierro, glucógeno, lípidos, aminoácidos y vitaminas. El hígado juega un papel importante en la desintoxicación de los xenobióticos y la excreción de los productos metabólicos finales como bilirrubina, amoníaco y urea.

Experimentos han mostrado que el hígado tiene un gran poder de regenerarse o en su defecto trabajar con algunas áreas dañadas, sin mostrar evidencias de daño. Por lo que se ha sugerido que las pruebas de función hepática son importantes para evidenciar daños hepáticos tempranos o incluso tardíos. De igual forma una alteración de las pruebas de función hepática no necesariamente indica daño en el órgano, ya que algunas enfermedades ajenas al hígado ocasionan trastornos en algunas pruebas de la función hepática.

DEFINICIÓN

El término —Pruebas de Función Hepática" (LFTs, por sus siglas en inglés) es aplicado a una variedad de pruebas de sangre para averiguar el estado general del hígado y del sistema biliar. Las pruebas rutinarias de función hepática pueden dividirse entre las que son valores reales de la función hepática, como seroalbúmina o tiempo de protrombina; y aquellas que son simplemente marcadores de la enfermedad hepática o del sistema biliar, como las diferentes enzimas hepáticas. Además de las pruebas hepáticas usuales, los médicos podrían ordenar pruebas hepáticas más específicas que cuando son positivas, pueden determinar la causa específica de una enfermedad hepática.

DETERMINACIONES QUE FORMAN EL PERFIL

Las determinaciones que forman este perfil tienen la característica de evaluar una función del hígado.

1) **Función Excretora:** Participa en la **elaboración** de la bilis y su excreción hacia el

intestino. Participa en la **secreción** de la bilis con productos provenientes de la actividad de células hepáticas:

bilirrubina, colesterol, sales biliares, metales pesados, colorantes y fosfatasa alcalina.

- Bilirrubina total
- Bilirrubina directa
- Bilirrubina indirecta
- Fosfatasa alcalina
- Sales biliares

2) **Función metabólica:** a) Biotransformación y eliminación de drogas,

b) Metabolismo del amonio: Participa en la destoxificación del organismo al realizar las reacciones de conjugación, metilación, oxidación, reducción y remoción de amoniaco, c) Metabolismo de los carbohidratos, d) Metabolismo lipídico, e) Metabolismo de aminoácidos y proteínas.

- Amonio

3) **Función de Síntesis:** a) Proteínas plasmáticas, b) Factores de la coagulación, c) Lípidos y lipoproteínas, d) Urea.

- Proteínas totales
- Albúmina
- Globulinas
- Fibrinógeno
- Colesterol total
- Colesterol libre
- Colesterol esterificado
- Glucosa sanguínea

4) **Función Hematológica:** cuantificación de fibrinógeno, tiempo de protrombina, haptoglobina, hemopexina.

- Fibrinógeno
- Tiempo de protrombina

5) **Enzimas hepáticas.** Existen dos categorías generales de enzimas hepáticas:

- El primer grupo incluye a las enzimas transaminasas: alaninoaminotransferasa (ALT, por sus siglas en inglés) y la aspartato aminotransferasa (AST, por sus siglas en inglés), antes conocidas como SGPT y SGOT (por sus siglas en inglés), y a la deshidrogenasa láctica (isoenzima 5). **Estas son enzimas indicadoras del daño a la célula hepática:**

- **ALT (TGP)**

- **AST (TGO)**
- **LDH₅**
- El segundo grupo incluye ciertas enzimas hepáticas, como la fosfatasa alcalina (ALP) y la gammaglutamiltranspeptidasa (GGT, por sus siglas en inglés) **las cuales indican obstrucción del sistema biliar, ya sea en el hígado o en los canales mayores de la bilis que se encuentran fuera de este órgano:**
 - **GGT**
 - **ALP**
 - **5' nucleotidasa**

A continuación se realizará la determinación de las pruebas que forman un perfil de pruebas funcionales hepáticas.

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 24
“DETERMINACIÓN DE BILIRRUBINA TOTAL, DIRECTA E INDIRECTA”
DURACION: 1.5 HR.

1. INTRODUCCIÓN

La bilirrubina se origina por degradación del grupo hem de la hemoglobina, como consecuencia de la destrucción de los glóbulos rojos en el sistema retículo endotelial. En una primera etapa se forma, por acción de una oxigenasa, un grupo formilo, con lo que se rompe el anillo tetrapirrólico del hem, formándose el compuesto denominado biliverdina, que en una etapa posterior y por acción de una reductasa se transforma en bilirrubina. Desde un punto de vista analítico y clínico, interesa conocer los niveles de bilirrubina total y diferenciar cuantitativamente la "bilirrubina libre" o prehepática que aumenta principalmente en procesos de tipo hemolítico, de la "bilirrubina conjugada" o hepática que está incrementada en la disfunción hepática y más concretamente en fallos de los mecanismos de su eliminación, a través del sistema biliar, cuyo primer paso es introducirse del hepatocito a los canalículos biliares.

Ictericia

La ictericia es una condición general provocada por el metabolismo anormal o la retención de la bilirrubina. La ictericia le produce una coloración amarilla a la piel, membranas mucosas y escleras. Se puede observar la ictericia típicamente con niveles de bilirrubina sérica de aproximadamente 50 mg/dL. Los tres tipos principales de ictericia son: la prehepática, la hepática y la posthepática.

La ictericia prehepática es el resultado de las anemias hemolíticas agudas o crónicas.

La ictericia hepática incluye los trastornos del metabolismo de la bilirrubina y los defectos en el transporte tales como: la enfermedad de

Críger-Najer (enfermedad congénita por deficiencia de la UDP glucoroniltransferasa, con aumento en la bilirrubina no conjugada), el síndrome de Dubin-Johnson (deficiencia en la postconjugación de la bilirrubina a diglucornilo de bilirrubina, con grandes aumentos de la bilirrubina conjugada) y la enfermedad de Gilbert (que es causada por un defecto en el transporte de la bilirrubina no conjugada, sin elevación de bilirrubina conjugada), así como la ictericia fisiológica del recién nacido (causadas por lo general por deficiencia en la glucoronil transferasa) y enfermedades que provocan la injuria o la destrucción hepatocelular. La ictericia hepática incluye los desórdenes caracterizados por daño hepatocelular o necrosis, tales como hepatitis o cirrosis. Se ha promocionado la medición de la bilirrubina delta como una mejor manera de evaluar la hiperbilirrubinemia resultante de la enfermedad hepática obstructiva. La fracción tiene una vida media sérica mayor que las otras fracciones. Si se encuentra elevada en concentraciones significativas, puede provocar un descenso aparentemente más lento en la caída de la bilirrubina sérica dando una falsa impresión de una falta de progreso a medida que la enfermedad hepática responde al tratamiento.

La ictericia posthepática es causada generalmente por una enfermedad obstructiva biliar provocada por espasmos o contracciones del tracto biliar, la oclusión dúctil por cálculos o compresión por enfermedad neoplásica. Puesto que en estas enfermedades las funciones hepáticas de transporte y conjugación de la bilirrubina son normales, el incremento mayor en la bilirrubina sérica implica a la fracción conjugada. Debido a la imposibilidad de ser excretada adecuadamente por el hígado, en estos desórdenes aumenta la fracción de bilirrubina conjugada en el suero, con el resultado de la aparición de bilirrubina en la orina. Si la enfermedad hepatocelular es suficientemente severa para provocar ictericia, se aumentan tanto las fracciones de bilirrubina conjugadas como no conjugadas. La razón es el daño general en el metabolismo de la bilirrubina.

2. OBJETIVOS

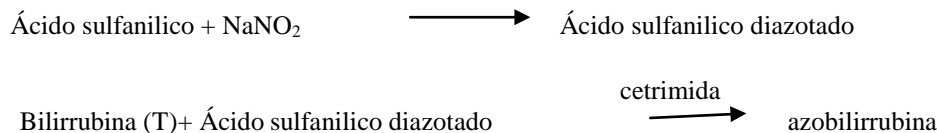
- Conocer el fundamento del método Malloy-Evelyn.
- Demostrar el manejo adecuado de la técnica para la determinación de bilirrubina en una muestra biológica.
- Establecer los valores de referencia de la bilirrubina total y directa y comparar con el valor de nuestra muestra problema a analizar.

- Definir cuáles son las principales patologías que se presentan con valores altos o bajos de bilirrubina en una muestra biológica.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Casi todas las técnicas de cuantificación de la bilirrubina se basan en la reacción de Malloy-Evelyn (DMSO), que valora colorimétricamente por la formación de azobilirrubina, de color rojo cereza, cuando a la bilirrubina se la hace reaccionar en determinadas condiciones con el ácido sulfanílico diazotado. La bilirrubina conjugada, muy polar, reacciona en medio acuoso con el reactivo de diazotación, por lo que se le llamó directa, pues al poner en contacto el suero y el reactivo aparecía directamente el color. Sin embargo, la bilirrubina libre, poco polar, no da directamente la reacción y es preciso añadir un tercer reactivo –que inicialmente fue el metanol– para que produzca la reacción de diazotación con la consiguiente aparición del color; por este motivo se llamó bilirrubina indirecta.

En el 1 método modificado de punto final el ácido sulfanílico reacciona con nitrito de sodio (NaNO_2) para formar ácido sulfanílico diazotado. En presencia de acelerador (cetrimida), la bilirrubina conjugada o no conjugada reacciona con el ácido sulfanílico diazotado para formar azobilirrubina.



Em ausencia de acelerador solo La bilirrubina conjugada reacciona para dar azobilirrubina:



Escriba la reacción con símbolos químicos (formula desarrollada):

4. METODOLOGÍA

4.1. Material Biológico

Suero: La estabilidad de la muestra, una vez separada de los hematíes y protegida de la luz, es de 3 meses a -20°C , 4 días a $2-8^\circ\text{C}$ o un día de 20 a 25°C

4.2 Material

5 ubos de ensaye de 13 X100mm. 1

Micropipetas de 1.0 mL.

1 Micropipeta de 200mL.

Puntas para micropipeta.
Gradilla.

5. REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, CONDICIONES DE ENSAYO Y DESARROLLO DE LA PRÁCTICA, TOMARLO DEL INSERTO DEL KIT

PERFIL ENZIMÁTICO HEPATOBILIAR

1. INTRODUCCIÓN

Las enzimas biológicas permiten que las reacciones metabólicas procedan con rapidez. Las enzimas con significado clínico funcionan en forma intracelular. Cuando se produce algún daño a los tejidos por enfermedades o lesiones, se liberan enzimas a la circulación y su actividad puede medirse como indicador de dichos daños.

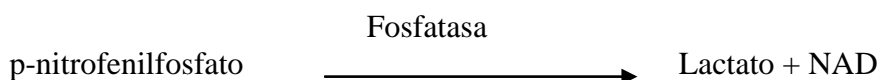
La actividad enzimática varía de acuerdo con la ubicación celular. Por lo tanto, el patrón de elevación enzimática es útil para detectar y diferenciar diversas enfermedades. Además existen varias isoenzimas en las que se observa una leve diferencia estructural de la enzima que depende del tejido primario en el cual se sintetiza. Esta diferencia estructural permite separar las enzimas totales en todas sus formas isoenzimáticas. Por este motivo, en vez de la determinación de una sola enzima, las baterías de pruebas enzimáticas que constan del análisis de dos o más enzimas o isoenzimas en vez de la determinación de una sola enzima, ofrecen una mayor sensibilidad y especificidad diagnósticas para la detección de afecciones.

Las enzimas que se solicitan para el diagnóstico de afecciones hepáticas incluyen AST, ALT, GGT y ALP. De ellas la AST y la ALT se elevan más en afecciones hepatocelulares, mientras que la GGT y la ALP indican, con mayor frecuencia, afecciones hepatobiliares. A medida que se cuenta con tecnología más avanzada, los análisis enzimáticos ofrecerán una sensibilidad y especificidad diagnósticas aún mayores, con capacidad para distinguir y detectar mejor las isoenzimas y las isoformas de las mismas. La importancia radica indudablemente en la selección adecuada de las metodologías más modernas, específicas y sensibles, para evaluar las enzimas presentes.

2. FUNDAMENTO

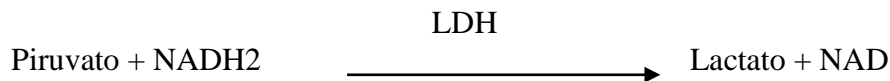
Para las determinaciones enzimáticas se pueden emplear fundamentalmente dos clases de métodos: directos e indirectos.

a) Métodos Directos: se mide la desaparición de los sustratos enzimáticos o la aparición de uno de los productos de la reacción, por ejemplo:



La actividad de la fosfatasa puede determinarse directamente dentro del rango de la luz visible (405 nm) midiendo la intensidad del color del p- nitrofenol liberado por hidrólisis del p-nitrofenilfosfato, como resultado de la acción de la fosfatasa. En este caso, uno de los productos formados, (p- nitrofenol) por ser colorido permite medir directamente la actividad enzimática.

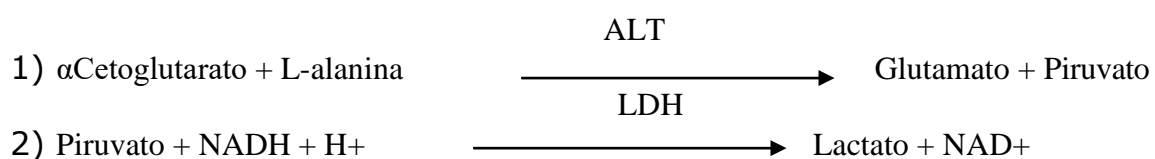
La desaparición de un compuesto no colorido, por transformarse en otro también incoloro. Este tipo de reacciones debe medirse a longitudes de onda específicas para el compuesto cuya desaparición se está controlando, por ejemplo:



En estas reacciones lo que se mide es la oxidación de la coenzima en su forma reducida (NADH₂), que absorbe específicamente a 340 nm. Por la acción de la deshidrogenasa, la coenzima pasa a su forma oxidada (NAD) que se absorbe a 340 nm (método UV).

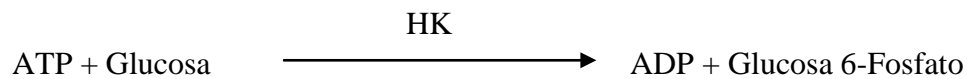
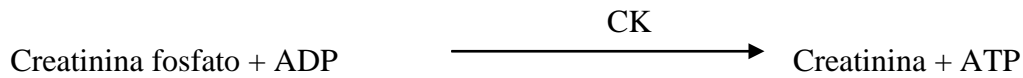
b) En los métodos indirectos, como su nombre lo indica, la actividad de la enzima se determina sólo en forma indirecta. Para ello es necesario acoplar dos o más reacciones, en una de las cuales intervenga la enzima que se desea determinar. Esta cataliza generalmente la transformación de un sustrato a un metabolito intermedio (producto de la reacción), cuya concentración se determina por la acción de una segunda enzima, de la cual ese metabolito es sustrato. La segunda enzima llamada enzima auxiliar, debe adicionarse generalmente durante la determinación, en tal forma que al final de la reacción lo que se mide es el resultado del acoplamiento de dos reacciones enzimáticas.

Como ejemplo de este tipo de determinaciones por métodos indirectos podemos mencionar las determinaciones de ALT, AST y CK, por métodos (UV). A diferencia de los métodos colorimétricos directos, como en el caso de la ALT, no se determina el piruvato formado, sino que éste se emplea a su vez como sustrato de una enzima auxiliar (LDH), que como se indicó debe adicionarse en la reacción:



En este caso se han acoplado las reacciones 1 y 2 midiendo la transformación de NADH y H⁺ a NAD, que como puede verse sólo está relacionada indirectamente con la enzima ALT.

En el caso de la creatinina fosfocinasa (CPK) o creatinina cinasa (CK) como también se le denomina, no solo se acoplan dos reacciones sino tres:



Para medir la actividad de la enzima que cataliza la fosforilación del ADP en ATP, es decir creatinina cinasa, es necesario emplear el ATP resultante, como donador de grupos fosfato que requiere la hexocinasa (HK) para formar glucosa 6-fosfato. Este compuesto tiene que ser empleado todavía en una tercera reacción como sustrato de otra enzima auxiliar, la deshidrogenasa de glucosa 6-fosfato (G-6FDH). Esta segunda enzima auxiliar es la que a su vez reduce la coenzima NADP (en su forma oxidada) hasta NADPH₂ y es la que puede ser medida a una longitud de onda a 340 nm.

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 25
“DETERMINACIÓN DE FOSFATASA ALCALINA (ALP)”
DURACION: 40 min.

1. INTRODUCCIÓN

La fosfatasa alcalina se encuentra ampliamente distribuida en los órganos del cuerpo humano. Fuentes de importancia clínica son: hígado, hueso, placenta, intestino, bazo y riñón. Aunque se desconoce su función biológica precisa, aparentemente participa en el transporte de membrana, ya que está unida a la membrana celular. En el hígado, la actividad de la ALP se localiza en la membrana celular que une el borde sinoidal de las células del páncreo a los canálculos biliares. En los huesos la actividad de la ALP se localiza en la membrana celular que une el borde sinoidal de las células del páncreo a los canálculos. En los huesos, su actividad se confina a los osteoblastos. El aumento de actividad de fosfatasa alcalina en suero se observa en diversas afecciones; sin embargo, su significado clínico se relaciona principalmente con la detección de enfermedades óseas y hepáticas. La actividad de la ALP es útil para el diagnóstico diferencial de enfermedades hepáticas. La fosfatasa alcalina suele elevarse más en caso de afecciones de los conductos biliares, que en las que se produce principalmente la lesión hepatocelular. Por lo tanto en la enfermedad hepática coléstatica u obstrucción hepatobiliar, la ALP suele incrementarse hasta 10 o 15 veces más que los valores normales, pero en general sólo se observan leves elevaciones de 2 a 3 veces los valores normales en afecciones hepatocelulares como hepatitis. Además, la síntesis de esta enzima se estimula por la colestasis. Otras afecciones hepáticas que también incrementan la actividad de la fosfatasa alcalina son: la mononucleosis infecciosa, la colangiolitiasis, la cirrosis total, carcinoma hepatocelular primario y carcinoma hepático metastático secundario, también incrementan la actividad de la fosfatasa alcalina. La ALP también se sintetiza en las células osteoblásticas, en donde se produce la formación de hueso. Por tanto, en afecciones óseas con incremento de actividad osteoblástica, en general los niveles de fosfatasa alcalina se elevan. En algunas afecciones que incluyen hipotiroidismo, escorbuto, hipofosfatemia, Kwashiorkor (niño rojo), cratinismo y anemia grave, se observa reducción de la actividad de fosfatasa alcalina. Es muy complicada la interpretación de la medición de la fosfatasa alcalina sérica, debido a que la actividad de la enzima puede aumentar en ausencia de enfermedad hepática. También se incrementa la actividad de la fosfatasa alcalina sérica durante la pubertad debido al crecimiento acelerado de los huesos y, durante el tercer trimestre del embarazo debido a la liberación de la fosfatasa alcalina por la placenta.

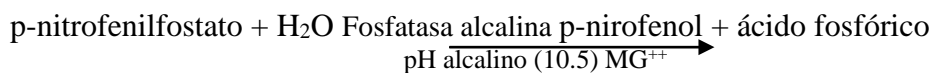
2. OBJETIVOS

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

3. FUNDAMENTACIÓN

La fosfatasa alcalina realmente es un grupo de enzimas que hidrolizan los ésteres de monofosfatos a un pH alcalino. El pH óptimo para estas enzimas es generalmente de aproximadamente 10. No se conocen los sustratos naturales para la fosfatasa alcalina. La actividad más alta de la fosfatasa alcalina se observa en el hígado, los huesos, el intestino, el riñón y la placenta, y se han identificado por lo menos 11 isoformas diferentes de la fosfatasa alcalina en el suero. Puesto que la fosfatasa alcalina contiene normalmente cantidades significativas de ácido siálico, la mayoría de estas formas múltiples de la enzima son el resultado de diferentes grados de sialación. Se sabe que la enzima producida por la placenta tiene una composición proteica diferente de las otras composiciones enzimáticas. En general las fosfatasas catalizan la hidrólisis de los ésteres del ácido fosfórico. En función de los valores de pH a los que logran su actividad óptima, se distinguen dos tipos de fosfatasas: la alcalina y la ácida.

Para la determinación de las fosfatasas según Bessey, Lowry y Brock, se utiliza como sustrato p-nitrofenilfosfato, que por la acción de la enzima se escinde en p-nitrofenol (cromógeno amarillo) y ácido fosfórico.



Escriba la reacción en forma desarrollada:

4. METODOLOGÍA

4.1 Muestra biológica

Suero, plasma heparinizado. La actividad del enzima debe ser determinada rápidamente o bien separar el suero de los hematíes. La pérdida de la actividad enzimática es menor de un 10% entre 2 a 3 días a 15- 25°C o durante 1 mes a -20°C.

4.2 Material

5 tubos de ensaye de 13 X100mm. 1

Micropipetas de 1.0 mL.

1 Micropipeta de 50mL.

Puntas para micropipeta.

Gradilla

4.3. Equipo

Espectrofotómetro o Fotómetro termostable a 37°C con filtro de 405 nm. Centrífuga

5. REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, CONDICIONES DE ENSAYO Y DESARROLLO DE LA PRÁCTICA, TOMARLO DEL INSERTO DEL KIT

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 26
“DETERMINACIÓN DE GAMMA-GLUTAMILTRANSFERASA
(GGT)”
DURACION: 40 min.

1. INTRODUCCIÓN

La GGT (o g-GT) es una enzima localizada en la membrana que juega un papel importante en el metabolismo del glutatión y en la reabsorción de los aminoácidos del filtrado glomerular y de la luz intestinal. El glutatión (g- glutamilsteínilglicina) en presencia de la GGT y un aminoácido o péptido transfiere el glutamato al aminoácido formando un enlace péptidico en el ácido g-carboxílico, formando, por consiguiente, cisteínilglicina y el péptido g-glutamil correspondiente. Aunque la mayor actividad de la GGT se presenta en el tejido renal, la elevación de la GGT generalmente es un indicador de la enfermedad hepática. La GGT sérica se eleva antes que las otras enzimas hepáticas en enfermedades como la colecistitis aguda, la pancreatitis aguda, la necrosis hepática aguda y subaguda, y neoplasias de sitios múltiples que cursan con metástasis hepáticas. Puesto que la GGT es una enzima microsomal hepática, la ingestión crónica de alcohol o drogas como los barbitúricos, los antidepresivos tricíclicos y los anticonvulsivantes inducen la producción de enzimas microsomales. Estas elevaciones inducidas por drogas preceden cualquier otro cambio en las enzimas del hígado y si se suspende la ingestión de la droga en ese momento, los cambios del hígado son generalmente reversibles. La GGT permite la diferenciación de otras enfermedades hepáticas en las cuales por sus condiciones se eleva la fosfatasa alcalina sérica, puesto que los niveles de GGT son normales en la enfermedad de Paget, el raquitismo y la osteomalacia y en los niños y mujeres embarazadas sin enfermedad hepática. Asimismo, puesto que la próstata tiene una actividad significativa de GGT, la actividad sérica es mayor en hombres sanos que en mujeres. La mayor utilidad de la GGT está en el diagnóstico de colestasis causadas por la ingestión crónica de alcohol o drogas, colestasis mecánicas o virales, metástasis hepáticas, desórdenes óseos con elevaciones de la fosfatasa alcalina, pero en los que la GGT es normal y desórdenes de músculo esquelético en los cuales la transaminasa ASAT está elevada pero la GGT está normal.

2. OBJETIVOS

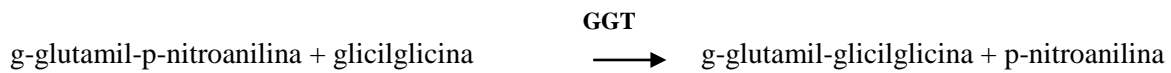
- Conocer la fundamentación del método.
- Demostrar el manejo adecuado de la técnica para la determinación de la gama

glutamiltransferasa en una muestra biológica.

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

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Se mide la actividad de la γ -glutamil transferasa mediante un método cinético enzimático. En la reacción, la γ -glutamil transferasa cataliza la transferencia de un grupo gamma-glutamil desde el sustrato incoloro gamma-glutamil-p-nitroanilina, al aceptor, glicilglicina, y genera un producto coloreado, la p-nitroanilina.



En el inserto ¿cuál ha sido el cambio que se ha realizado a la fundamentación?

4. METODOLOGÍA

4.1 Material biológico

Solamente utilizar suero. No utilizar plasma. La γ -GT es estable en el suero 8 horas a 15-25°C, 3 días a 2-8°C y un mes congelado a -20°C.

4.2. Material

5 tubos de ensaye de 13 X100mm. 1

Micropipetas de 1.0 mL.

1 Micropipeta de 200mL.

Puntas para micropipeta.

Gradilla

4.3. Equipo

Espectrofotómetro ó Fotómetro termostable a 37°C con filtro de 405 nm. Centrífuga

5. REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, CONDICIONES DE ENSAYO Y DESARROLLO DE LA PRÁCTICA, TOMARLO DEL INSERTO DEL KIT

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 27
“ASPARTATO AMINOTRANSFERASA-TGO (ASAT) ALANINO
AMINOTRANSFERESA -TGP (ALAT)”
DURACION: 40 min.

1. INTRODUCCIÓN

Las transaminasas ASAT y ALAT catalizan la conversión de aspartato y alanina a oxaloacetato y piruvato respectivamente. En el hígado se encuentran los niveles más altos de ALAT, mientras que la ASAT se encuentra presente en el corazón, músculo esquelético e hígado en cantidades similares. La actividad en el suero de tanto la ASAT como la ALAT aumenta rápidamente durante el comienzo de la ictericia viral y permanece elevada por 1 a 2 semanas. En las hepatitis tóxicas también se elevan la ALAT y la ASAT, pero la LDH se eleva mucho más como resultado de la necrosis celular hepática. En los pacientes con hepatitis crónica activa también se observan aumentos en la ASAT y ALAT. La necrosis hepática aguda se acompaña por incrementos significativos en las actividades tanto la ALAT y la ASAT. El aumento en la actividad de la ALAT es generalmente mayor que el incremento en la actividad de la ASAT. En la cirrosis del hígado las actividades de las transaminasas séricas generalmente no se elevan por encima de 300 U/L, sin importar la causa de la enfermedad cirrótica. Las elevaciones en las ALAT y ASAT séricas observadas en el síndrome de Reye, son atribuibles directamente al daño hepático, y el incremento en la ALAT es generalmente mayor que el incremento en la ASAT. También se incrementa la actividad de las transaminasas en la actividad neoplásica. En el diagnóstico de la enfermedad del hígado, la medición de los niveles séricos de ASAT y ALAT es valiosa. Sin embargo, la mejor manera de usar estos análisis es junto con otros análisis de enzimas como la LDH y la creatina cinasa, y con otras mediciones de la función renal y hepática como la urea sanguínea, la creatinina, el amoníaco y la bilirrubina. Esto es importante cuando se establece el diagnóstico puesto que la ALAT y la ASAT están presentes en otros tejidos además del hígado y la actividad sérica de estas enzimas puede reflejar una enfermedad orgánica en tejidos distintos al hígado. Las actividades séricas de la ALAT y la ASAT se elevan en el infarto del miocardio, infarto renal, distrofia muscular progresiva y otro gran número de enfermedades que solamente afectan al hígado de una manera secundaria, como la enfermedad de Gaucher, la enfermedad de Niemann- Pick, la mononucleosis infecciosa, la leucemia mielocítica, la cetoacidosis diabética y el hipertiroidismo.

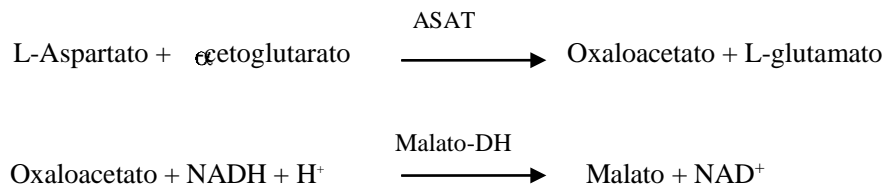
2. OBJETIVOS

- Conocer la fundamentación del método.
- Aplicar el manejo adecuado de la técnica para la determinación de la aspartato aminotransferasa y de la alanino aminotransferasa en una muestra biológica.
- Establecer los valores de referencia de las enzimas ASAT y ALAT; y comparar con el valor de nuestra muestra problema a analizar.
- Definir cuáles son las principales patologías que se presentan con valores altos o bajos de ASAT Y ALAT en una muestra biológica.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

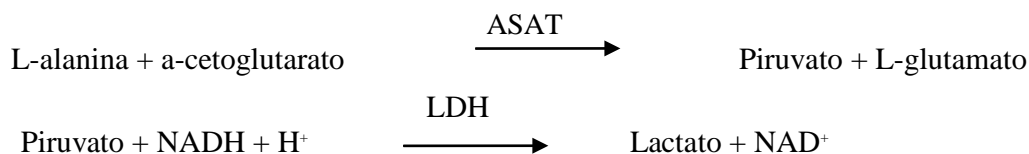
3.1. ASPARTATO AMINOTRASNFERASA-TGO

Se mide la actividad de la aspartato aminotransferasa mediante un método cinético enzimático. En la reacción, la aspartato aminotransferasa cataliza la transaminación reversible de L-aspartato y α -cetoglutarato a oxaloacetato y L-glutamato. Luego, el oxaloacetato se reduce a malato en presencia de malato deshidrogenasa (MDH), con la oxidación concurrente de α dinucleótido de nicotinamida adenina reducida (NADH) a dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD).



3.2. ALANINO AMINOTRASFERASA-TGP

Se mide la alanina aminotransferasa con un método cinético. En la reacción, la alanina aminotransferasa cataliza la transaminación reversible de un grupo amino de la L-alanina al α -cetoglutarato con formación de piruvato y L-glutamato. Luego, el piruvato se reduce a lactato en presencia de lactato deshidrogenasa (LDH) con la oxidación concurrente de alfa-dinucleótido de nicotinamida adenina reducido (NADH) a dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD).



4. METODOLOGÍA

4.1 Muestra biológica

Suero o plasma heparinizado.

4.2 Material

5 tubos de ensaye de 13 X100mm. 1
Micropipetas de 1.0 mL.
1 Micropipeta de 200mL.
Puntas para micropipeta.
Gradilla

4.3. Equipo

Espectrofotómetro ó Fotómetro termostatable a 37°C con filtro de 340 nm. Cronómetro
Incubadora de agua o baño seco.

5. REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, CONDICIONES DE ENSAYO Y DESARROLLO DE LA PRÁCTICA, TOMARLO DEL INSERTO DEL KIT

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 28
“OTROS COMPUESTOS ANALIZADOS EN EL PERFIL HEPATICO”
DURACION: 1.5 HR.

1. LACTATO DESHIDROGENASA (LDH)

Cuando solamente está implicado un órgano específico, como el hígado, la medición de la LDH total puede ser útil. La LDH se incrementa con las hepatitis virales o tóxicas, en la obstrucción biliar extrahepática, en la necrosis aguda del hígado y en la cirrosis del hígado. Sin embargo, en condiciones en las que puedan estar implicadas varios órganos, la medición del LDH total es menos útil que la medición de las isoenzimas de la LDH. Las isoenzimas LDH5 y LDH4 son las responsables de la actividad primaria del hígado, mientras que las isoenzimas LDH1 y LDH2 son las responsables por la actividad predominante de la LDH en el corazón y el riñón. Puesto que los glóbulos rojos también contienen mucha LDH1, se debe evitar el análisis de muestras de suero bemozadas. En las condiciones hepáticas, la electroforesis de la LDH muestra que la elevación en la LDH total se debe a la liberación de LDH4 y LDH5 al suero. La mayor actividad de la LDH se presenta en el riñón y el corazón, y la menor en el pulmón y el suero. La LDH se localiza en el citoplasma celular y es por tanto liberada al suero cuando las células se dañan o necrosan. Los valores de lactato deshidrogenasa se utilizan en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades hepáticas tales como la hepatitis viral aguda, la cirrosis y el carcinoma hepático metastásico, también en enfermedades cardíacas como el infarto del miocardio, y tumores de pulmón o de riñón. El reactivo LDH se utiliza para medir la actividad de la lactato deshidrogenasa con un método cinético enzimático. En la reacción, la LDH cataliza la oxidación reversible de L-lactato a piruvato con la reducción concurrente de dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD) a dinucleótido de nicotinamida adenina reducido (NADH). La deshidrogenasa láctica está presente en muchos tejidos. La LDH cataliza la interconversión de piruvato y lactato:



2. 5'-Nucleotidasa

La 5'-Nucleotidasa (NTD) es una enzima localizada en los microsomas y las membranas celulares que cataliza la hidrólisis de los ésteres 5'-fosfato nucleósidos. La enzima sérica tiene un pH óptimo aparente de 7.5:



Al igual que la GGT, la NTD sérica se eleva en las enfermedades hepatobiliares tales como: obstrucción por cálculos del ducto biliar, colestasis biliar, cirrosis y enfermedad obstructiva causada por crecimiento neoplásico. Sin embargo, la NTD no se eleva generalmente en daño hepático inducido por drogas.ref Por esto es útil medir la NTD junto con la GGT para seguir el curso de la quimioterapia en neoplasias del hígado. Puesto que la NTD no se eleva en la enfermedad ósea, al igual que la GGT es útil para diferenciar las causas hepáticas para la elevación en la fosfatasa alcalina, derivadas de otros factores, tales como las enfermedades óseas, el embarazo y crecimiento normal.

3. Colesterol.

El colesterol sérico está compuesto de: colesterol libre y el esterificado. Puesto que la esterificación se realiza en el hígado la enfermedad intrahepática o la obstrucción biliar se caracterizan por un incremento del colesterol libre y ocasionalmente por un desplazamiento en el perfil de ácidos grasos libres del suero, aunque el colesterol total permanece usualmente sin modificar. El colesterol total puede disminuir hasta valores inferiores al rango de referencia en la enfermedad crónica asociada con la destrucción del parénquima celular.

4. Ácidos biliares.

En la enfermedad se altera la secreción y producción de ácidos biliares. El suero contiene 1 a 2 mg/mL de ácidos biliares en el adulto sano. En la enfermedad hepatobiliar, las concentraciones de ácidos biliares séricos se pueden elevar hasta 1000 veces. También se pueden elevar significativamente en otras enfermedades como hepatitis, cirrosis, enfermedad hepática inducida por drogas y el hepatoma. Las concentraciones de ácidos biliares séricos se encuentran normales en la enfermedad de Gilbert, la hemocromatosis y la enfermedad poliquística del hígado. La medición de los ácidos biliares es útil para el diagnóstico de la disfunción hepática mínima cuando los otros parámetros aún están sin modificar.

5. Triglicéridos.

Los incrementos son relativamente inespecíficos; la disfunción hepática causada por hepatitis, obstrucción biliar extrahepática y cirrosis se asocia con un incremento en los triglicéridos séricos, pero así sucede también en enfermedades como la pancreatitis aguda, infarto del miocardio, falla renal, gota, anemia perniciosa y diabetes mellitus. Los ácidos grasos libres también son no específicos. Están disminuidos en la hepatitis crónica, la falla renal crónica y la fibrosis quística.

Las concentraciones de ácidos grasos libres se elevan en el síndrome de Reye, la encefalopatía hepática y la hepatitis crónica activa, pero también en el infarto del miocardio, la falla renal aguda, el hipertiroidismo y el feocromocitoma.

6. Proteínas séricas en la evaluación de la función hepática.

Se requiere un hígado sano en pleno funcionamiento para la síntesis de las proteínas séricas, excepto las gamma globulinas. El hígado tiene la capacidad de duplicar la producción y salida de proteínas durante las enfermedades asociadas con pérdida de proteínas. En consecuencia, no debe sorprender que las mediciones de proteínas totales no se alteren, sino hasta que haya ocurrido una disminución extensiva de la función hepática. La albúmina se disminuye en la enfermedad hepática crónica y generalmente se acompaña por un incremento en las globulinas beta y gamma, debido a la producción de IgG e IgM en la hepatitis crónica activa y de la IgM e IgA en la cirrosis biliar o alcohólica respectivamente. Sin embargo, una disminución en la albúmina sérica no es específica para la enfermedad hepática puesto que la albúmina también disminuye en la malabsorción, la desnutrición, la enfermedad renal, el alcoholismo y las enfermedades malignas.

La fracción alfa1 de las globulinas séricas se disminuye en la enfermedad hepática crónica y cuando esta fracción está ausente, o casi, indica que una deficiencia en la alfa1-antitripsina puede ser la causa de la enfermedad hepática. Las proteínas séricas, globulina alfa2 y beta se aumentan en la ictericia obstructiva. Este incremento en la alfa2-globulina y la beta globulina en la ictericia obstructiva está asociada con interferencias en el metabolismo normal de las lipoproteínas. Por consiguiente, no se puede hacer claramente el fenotipo de un desorden lipídico en presencia de enfermedad hepática.

El hígado produce los factores de coagulación y éstos pueden disminuir significativamente en la presencia de enfermedad hepática. El fibrinógeno plasmático está presente normalmente en una concentración de 2 a 4 g/L. Una disminución en el fibrinógeno plasmático indica una enfermedad hepática severa y está asociada con concentraciones disminuidas de otros factores de coagulación, especialmente la protrombina. Puesto que la síntesis de la protrombina ocurre en el hígado, y requiere de la vitamina liposoluble K, se puede incrementar el tiempo de protrombina, en la enfermedad obstructiva biliar, la cirrosis o necrosis hepática, la falla hepática, el síndrome de Reye, los abscesos hepáticos, la deficiencia de vitamina K y la hepatitis. Se puede diferenciar

la enfermedad intrahepática asociada con una disminución en el factor de coagulación, de la enfermedad obstructiva intrahepática con una absorción disminuida de vitamina K, observando la respuesta del tiempo de protrombina a la administración exógena de vitamina K.

7. Urea y amoníaco en la evaluación de la función hepática.

La concentración sanguínea de amoniaco es superior en los infantes que en los adultos, debido a que el desarrollo de la circulación hepática se termina después del nacimiento. La hiperamonemia es una entidad que resulta poco frecuente debido a defectos congénitos en el ciclo de la urea. El error innato del metabolismo más común es la deficiencia en ornitina transcarbamilasa. La hiperalimentación es una causa mucho más frecuente de hiperamonemia en infantes. Con frecuencia, se diagnostica el síndrome de Reye por un amoniaco sanguíneo elevado en ausencia de otra causa demostrable.

Los pacientes adultos muestran concentraciones elevadas de amoníaco sanguíneo en las etapas terminales de la cirrosis hepática, la falla hepática, y la necrosis del hígado aguda y subaguda. Se presagia el comienzo de la encefalopatía hepática por una elevación en el amoníaco sanguíneo. Se ha demostrado que la medición en líquido cefalorraquídeo (LCR) de la glutamina, correlaciona bien con el desarrollo de la encefalopatía hepática. También se puede usar la medición de la glutamina en el LCR, para diferenciar la encefalopatía hepática de la séptica. Sin embargo, no es común la medición de la glutamina en el LCR. La excreción de amoníaco urinario se eleva en la acidosis y se disminuye en la alcalosis, puesto que la formación de sales de amonio es un mecanismo importante para excretar el exceso de iones hidrógeno. Daños en los túbulos renales distales, tal como ocurre en la falla renal, la glomerulonefritis, el hipercorticoidismo y la enfermedad de Addison, conllevan a una excreción de amoníaco disminuida sin presentar cambios en los niveles sanguíneos de amoníaco. Puesto que la urea se sintetiza en el hígado, se presenta nitrógeno ureico sérico bajo, en la enfermedad hepática sin daño en la función renal, aunque la relación urea a creatinina se puede conservar normal. La elevación en el nitrógeno ureico sérico no implica necesariamente daño renal, puesto que la deshidratación puede llevar a concentraciones de nitrógeno ureico tan altas como 600

mg/L, y los infantes que reciben una fórmula alta en proteínas pueden tener niveles de nitrógeno ureico de 250 a 300 mg/L. Naturalmente, enfermedades como la glomerulonefritis aguda, la nefritis crónica, el riñón poliquístico y la necrosis renal elevan el nitrógeno ureico.

**PRUEBAS QUE FORMAN UN PERFIL HEPATICO PROTEINAS TOTALES
ALBUMINA GLOBULINAS RELACION A/G**

BILIRRUBINA TOTAL BILIRRUBINA DIRECTA BILIRRUBINA INDIRECTA

ASAT ALAT ALP

COLESTEROL GLUCOSA

FIBRINÓGENO TP

Variantes:

**GGT 5'NUCLEOTIDASA
LDH ISOFORMAS 4 Y 5**

ENZIMOLOGÍA CLÍNICA

PERFIL PANCREÁTICO

1. INTRODUCCIÓN

El páncreas puede ser la —glándula maestra del cuerpo si se consideran los graves trastornos digestivos y metabólicos que aparecen cuando se pierden sus funciones exocrinas y endocrinas. El principal trastorno al que conduce la pérdida de la función endocrina es la diabetes mellitus, que cuenta con mayor morbilidad y mortalidad que todas las otras enfermedades pancreáticas juntas. Las pruebas de laboratorio importantes a este respecto, son la determinación de glucosa en sangre, fructosamina y hemoglobina A1c con objeto de conocer el control glucémico a corto y largo plazo. La pérdida de la función exocrina es común en la fibrosis quística y en algunos sujetos con ataques repetidos de pancreatitis generalmente causados por el abuso crónico del alcohol. El páncreas tiene una gran reserva y la pérdida de la función produce síntomas sólo después de que 85% de las células acinares se ha perdido.

Existen algunas pruebas de función pancreática que junto con la de grasa en materia fecal son las más importantes. Las pruebas en suero, como la tripsina inmunorreactiva, son las menos sensibles y menos específicas a pesar de ser las más fáciles de realizar. La pancreatitis aguda es una de las principales emergencias médicas; el alcoholismo y las enfermedades del tracto biliar son las causas predominantes. Los cambios observados en las enzimas pancreáticas como amilasa y lipasa pueden ser de moderados a intensos, desafortunadamente sólo es posible obtener una estimación de la gravedad del padecimiento con los estudios de laboratorio.

Las pruebas de la función pancreática son útiles para el diagnóstico de pancreatitis aguda y crónica. La estimación enzimática en las enfermedades del páncreas es muy valiosa para corroborar una impresión clínica o establecer el diagnóstico. Un estudio preciso requiere estudios de gabinete como tomografía axial computarizada, ultrasonografía, pancreatografía e intubación duodenal. En los pacientes con pancreatitis aguda la actividad de la amilasa aumenta a las pocas horas del comienzo de la enfermedad volviendo a la normalidad en dos a cinco días. La actividad de la lipasa aumenta más lentamente que la amilasa sérica, hasta 24 a 48 horas, alcanzado su valor máximo en el cuarto día permaneciendo elevada por más tiempo. Los leucocitos aumentan

considerablemente (15 a 30 mil/mmc) predominando la neutrofilia, también se acompaña de hipocalcemia debida a la saponificación de la grasa escindida por la lipasa, se observa hiperglucemia en la mitad de los casos con curva tipo diabético, el aspecto del suero es lechoso en ciertos casos ya veces muy duradero.

En la pancreatitis crónica aumenta más la lipasa, pero con mayor frecuencia esta más elevada en enfermos con carcinoma del páncreas. Los datos de laboratorio son comparables a los de la pancreatitis aguda, la diferencia es que conforme avanza la enfermedad la hiperenzimemia es cada vez menor, en tanto que la hiperglucemia y la glucosuria con crecientes. La pancreatitis crónica generalmente es la secuela de múltiples brotes de la enfermedad aguda y los resultados de laboratorio normalmente no son muy útiles para el diagnóstico. El adenocarcinoma de páncreas, la forma común de la enfermedad maligna, es letal para casi todos los pacientes debido a la naturaleza invasiva del cáncer y su progresión rápida y silenciosa. No existen pruebas adecuadas de escrutinio para el cáncer pancreático y la muerte se presenta típicamente de seis meses a un año del diagnóstico. Las neoplasias de los islotes de Langerhans son un reto bioquímico para su diagnóstico. Para establecer el diagnóstico se requiere realizar pruebas que determinen las hormonas normalmente producidas en las células del islote de Langerhans y otros factores.

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 29
“DETERMINACIÓN DE ALFA AMILASA”
DURACION: 30 min.

1. INTRODUCCIÓN

La amilasa alfa (AMS) es una metaloenzima que requiere calcio y pertenece a la clase de hidrolasas. La reacción enzimática que cataliza la amilasa alfa es la hidrólisis aleatoria de enlaces glicosídicos alfa-1,4 internos del almidón, glucógeno y otros polímeros de la glucosa. Los productos de digestión de la amilasa, que es una molécula de almidón lineal que contiene sólo enlaces alfa 1,4, son maltosa, maltotrina y otras dextrinas. Las principales fuentes tisulares de esta enzima son las glándulas salivales y las células acinares del páncreas. La actividad de amilasa alfa no es específica para estos tejidos, ya que también se encuentra en el epitelio intestinal, trompas de Falopio, mucosa del cuello uterino, endometrio y tejido del seno durante la lactancia. La principal función de la amilasa alfa se debe a la fracción pancreática, que ayuda a la digestión del almidón, glucógeno y sus productos de descomposición en el intestino delgado. La AMS de la saliva inicia la digestión de almidón en la cavidad oral, pero su acción termina con rapidez a consecuencia del pH ácido del jugo gástrico durante la deglución.

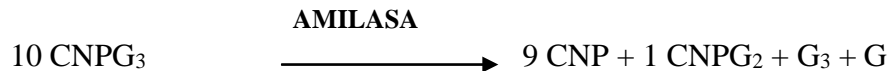
2. OBJETIVOS

- Conocer la fundamentación del método cinético para determinar amilasa sérica y urinaria.
- Aplicar el manejo adecuado de la técnica para la determinación de la amilasa en una muestra biológica
- Definir cuáles son las principales patologías que se presentan si tenemos valores altos o bajos de AMY en una muestra biológica.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Durante años los niveles de α -amilasa en suero han evidenciado la necesidad de su determinación para el diagnóstico de pancreatitis aguda. Las primeras técnicas estaban basadas en los cambios de la absorción máxima del complejo entre el almidón y el yodo, ya que la α -amilasa degrada al almidón. Otros métodos están basados en la producción de p- nitrofenol a partir de sustratos oligosacáridos específicos con grupos bloqueantes en el azúcar terminal. Estos

métodos utilizan una variedad de enzimas para hidrolizar la corta cadena de oligosacáridos para producir p- nitrofenol. Estas enzimas contienen una actividad residual de α -amilasa que reduce significativamente la estabilidad del reactivo. Se mide la actividad de la amilasa con un método cinético enzimático. La alfa amilasa hidroliza el 2-cloro-4-nitrofenil-alfa-D-maltotrió (CNPG₃) a 2- cloro-4-nitrofenol (CNP) y forma 2-cloro-4-nitrofenil-alfa-D-maltosido (CNPG₂), maltotriosa (G₃) y glucosa (G) según la siguiente reacción:



La velocidad de formación de 2-cloro-4-nitrofenol (CNP) determinado fotométricamente es proporcional a la concentración catalítica de alfa- amilasa en la muestra ensayada.

4. METODOLOGÍA

4.1 Muestra biológica

Suero, plasma heparinizado u orina. Otros anticoagulantes como el citrato o EDTA no son recomendables. Una vez efectuada la extracción, centrifugar y separar el suero lo antes posible. La α -amilasa es estable en la muestra durante una semana a temperatura ambiente (20-25°C) y varios meses cuando la muestra se guarda bien tapada y refrigerada a 2-8C.

4.2 MATERIAL Y REACTIVOS

Material necesario

Tubos de ensaye de 13 X100mm.
Micropipeta de 1.0 mL. Micropipeta de 20mL. Micropipeta de 200 mL
Puntas para micropipeta.
Gradilla
Pipetas graduadas

4.3. Equipo

Espectrofotómetro o Fotómetro termostable a 37°C con filtro de 405 nm. Cronómetro

4.4. Composición del reactivo

Cloruro sódico
Acetato cálcico
Tiocianato potásico
Ácida sódica CNPG₃

4.5. Técnica

Longitud de onda 405 nm

Temperatura 37°C

Ajustar a cero con agua destilada.

Pipetear:

reactivo	Suero	Orina
R (ml)	1.0	1.0
Muestra (uL)	20	10

Mezclar e incubar durante 30 segundos. Leer La absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronómetro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos. Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$).

4.6. Cálculos

Suero o plasma $\Delta A/\text{min} \times 3954 = \text{U/L AMS (ALFA AMILASA)}$ Orina

$$\Delta A/\text{min} \times 7908 = \text{U/L AMS}$$

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

4.7. Resultados

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

Orina $\Delta A/\text{min} \times 7908 =$ U/L AMS

4.8. Valores de referencia

Suero o plasma hasta 90 U/L AMS Orina

hasta 450 U/L AMS

4.9. Interferencias

La hemólisis interfiere en los resultados, la actividad de la enzima puede ser inhibida por agentes quelantes como citrato o EDTA. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de alfa-amilasa.

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 30
“DETERMINACIÓN DE LIPASA”
DURACION: 30 min.

1. INTRODUCCIÓN

La lipasa es una esterasa que actúa sobre las uniones ésteres del glicerol emulsificado por las sales biliares y ácidos grasos, en presencia del ión calcio y a un pH óptimo de 8.0, hidroliza las grasas (glicéridos), separando en ellas ácidos grasos y dejando libre la glicerina. Es importante en la digestión, su acción es grandemente facilitada por las sales y ácidos biliares, que emulsifican las grasas y dan lugar a gotas pequeñas de 0.5 a 1.0 micras de diámetro llamadas micelas. El pH intestinal ácido impide que los ácidos grasos liberados formen jabones. Se observa actividad de lipasa en páncreas mucosa intestinal, estómago, leucocitos y tejido adiposo. Sin embargo, sólo la lipasa pancreática tiene significado clínico. Como la lipasa se produce principalmente las células acinares del páncreas, su utilidad clínica se relaciona casi de manera exclusiva con el diagnóstico de laboratorio de pancreatitis aguda. Otras afecciones en las cuales se incrementa la actividad de lipasa incluyen intoxicación aguda con alcohol y traumatismos accidentales o quirúrgicos del abdomen.

2. OBJETIVOS

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

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El primer método utilizado fue descrito por Cherry y Crandall a base de una emulsión de aceite de oliva. Las esterasas y otras enzimas se inhiben en éste método por la presencia de sales biliares en el sustrato y por el uso de un pH mayor que en el método de Cherry y Crandall. Actualmente se utilizan métodos modificados del original.

4. METODOLOGÍA

4.1 Muestra biológica

Suero fresco no hemolizado o plasma.

4.2 MATERIAL

Tubos de ensaye de 13 X100mm.

Micropipeta de 1.0 mL. Micropipeta de
10uL.

Puntas para micropipeta.

Gradilla

Equipo:

Espectrofotómetro o Fotómetro

Cronómetro

Incubadora de agua

5. REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, CONDICIONES DE ENSAYO Y DESARROLLO DE LA PRÁCTICA, TOMARLO DEL INSERTO DEL KIT.

PERFIL CARDIACO

INTRODUCCION

El metabolismo altamente anaeróbico del corazón le permite usar como combustible muchos sustratos normalmente presentes en el plasma, y la absorción cardíaca de la mayoría de estos sustratos es proporcional a su concentración arterial una vez que ciertos niveles son excedidos. En términos generales, el corazón usa los ácidos grasos libres como su combustible predominante. También consume importantes cantidades de glucosa y lactato, así como cantidades más pequeñas de piruvato, cuerpos cetónicos y aminoácidos. La mayor parte de la energía para la función cardíaca se obtiene de la descomposición de metabolitos a través del ciclo del ácido cítrico y la fosforilación oxidativa. Estas vías enzimáticas se encuentran principalmente en las mitocondrias, representando aproximadamente un 35% del volumen total del músculo cardíaco.

Varias enzimas encontradas en el tejido miocárdico son clínicamente importantes debido a que su liberación en el torrente sanguíneo puede estar relacionada con el daño y la muerte de las células miocárdicas.

1. Creatina cinasa

La enzima responsable de la regeneración del ATP es la creatina cinasa. Tiene un peso molecular de 85,000 daltones y existe en diversas formas isoenzimáticas. La creatina cinasa (CC) es un dímero, compuesto de las dos subunidades M (músculo) y B (cerebro). Las tres isoenzimas formadas a partir de estas subunidades se encuentran en el citosol. Estas isoenzimas se abrevian como MM, MB, y BB. Si comparamos la actividad de la enzima en varios tejidos, el músculo esquelético tiene por mucho la mayor actividad, poseyendo unas 50,000 veces la concentración de la CC sérica. La isoenzima esquelética predominante es la isoenzima MM, con sólo trazas de las isoenzimas MB y BB en la mayoría de las fibras musculares posiblemente debido a que el reposo en cama reduce la cantidad de enzimas liberadas del músculo.

2. Isoformas de CC

Las isoenzimas CC-MM (músculo esquelético), CK-BB (tejido cerebral) y CC- MB (híbrido cardíaco) en suero pueden ser fraccionadas en subtipos o isoformas mediante técnicas de alta resolución, tales como electroforesis de alto voltaje o enfoque isoelectrico. Las isoformas de CC-

MM y CC-MB se forman en la sangre mediante la ruptura enzimática irreversible del aminoácido del COOH terminal, un residuo de lisina, de la subunidad M o de las subunidades de las isoenzimas del tejido. Para la CC-MM, esta ruptura involucra la remoción sucesiva de los residuos terminales de lisina de cada subunidad M, dando lugar a tres isoformas llamadas MM3 (forma tisular, o Mlisina Mlisina), MM2 (o Mlisina M), y MM1 (o MM). La CC-MB, que tiene una sola subunidad M, consiste de dos isoformas en la circulación, la llamada MB2 (forma de tejido, o Mlisina B), y MB1 (o MB).

La actividad de CC del músculo esquelético medida en unidades internacionales es aproximadamente de 2000 U/g, comparada con la actividad del músculo cardíaco de 500 U/g. En suero normal, por lo menos el 95% de la CC presente es del tipo MM que probablemente se deba principalmente a fugas del músculo esquelético, particularmente durante la actividad física. Debido a esto, la actividad de la CC sérica en personas activas saludables muestra una distribución asimétrica inclinada hacia valores más altos. Además, los valores son más bajos en las mujeres que en los hombres y son más bajos en la mañana que en la noche. Los valores tienden a ser más bajos en pacientes hospitalizados.

3. Lactato deshidrogenasa

La lactato deshidrogenasa (LDH) es una enzima tisular ubicua que cataliza la reducción de piruvato a lactato usando nicotinamida adenina dinucleótido (NAD). La LDH de un peso molecular de aproximadamente 140,000 daltones, es un tetrámero compuesto de cuatro subunidades con peso molecular de 35,000 daltones cada una. Las subunidades, que son de dos tipos, H (corazón) y M (músculo), se combinan para formar las cinco isoenzimas de LDH. La principal isoenzima (HHHH) tiene una actividad máxima en presencia de bajas concentraciones de piruvato, pero se inhibe por exceso de piruvato. Por contraste, la principal isoenzima muscular (MMMM) exhibe actividad máxima en presencia de una mayor concentración de piruvato y se inhibe menos por exceso de piruvato. El corazón metaboliza los ácidos grasos y los carbohidratos a una velocidad aproximadamente constante con oxidación completa del piruvato a través del ciclo de Krebs del ácido cítrico. Por lo tanto, el corazón tiene una baja concentración tisular de piruvato y lactato y rápidamente convierte el lactato del plasma en piruvato. Por contraste, el músculo, con rápidas demandas de incrementos de energía durante el ejercicio, tiene que contener con rápidos incrementos en piruvato y lactato de tejido causados por el metabolismo anaeróbico.

La LDH se encuentra en el citosol de todas las células humanas y por lo tanto tendría poca especificidad para el diagnóstico a no ser por el hecho de que las isoenzimas están presentes en diferentes proporciones en cada tejido. El corazón y los eritrocitos contienen principalmente LDH1 y LDH2, mientras que el músculo esquelético y el hígado contienen LDH5 y en menor grado LDH4. El suero normal contiene principalmente LDH2, con menores cantidades de LDH1 y de las otras isoenzimas. Si las enzimas son liberadas del tejido cardíaco al suero, a menudo vemos un cambio en la proporción de LDH1 a LDH2. La vida media de la LDH es diferente para cada isoenzima; la isoenzima 1 (HHHH), tiene una vida media de aproximadamente 100 horas, mientras que la isoenzima 5 (MMMM) tiene una vida media de solo 10 horas. El componente MB, sin embargo, está incrementado en ciertos trastornos musculares, particularmente en la distrofia muscular tipo Duchenne y en la polimiositis.

4. Aspartato aminotransferasa

La aspartato aminotransferasa (ASAT) cataliza la transferencia de un grupo amino entre el ácido aspártico y el piruvato para formar oxaloacetato (alfa cetoglutarato) y alanina. Esta enzima ubicua es esencial en el metabolismo intermedio y permite que los aminoácidos ácido aspártico y ácido glutámico se degraden en el ciclo de Krebs. La enzima existe en dos formas estructuralmente diferentes; una se encuentra principalmente en el citoplasma y la otra en las mitocondrias. La forma citosólica es la que se encuentra en el suero. Su vida media en el suero es probablemente de alrededor de 20 horas. El hígado tiene la mayor actividad enzimática, con aproximadamente 85 U/g de tejido, mientras que el corazón posee 75 U/g y el músculo esquelético cerca de 50 U/g.

Proteínas contráctiles

Los marcadores bioquímicos más comúnmente usados para lesión del miocardio están involucrados con el metabolismo de las células, son solubles y están localizados en el compartimento citosólico de las células. Debido a estas propiedades, una gran proporción de estos marcadores citosólicos son liberados rápidamente en la circulación después de una lesión celular. Por contraste, la naturaleza y función de las proteínas estructurales determina que sean solubles; por consiguiente una proporción relativamente pequeña está libre en el citosol y disponible para su rápida liberación poco después de una lesión celular. A esta pequeña proporción disponible para liberación se le denomina el —reservorio citosólico. A pesar de la desventaja teórica de su insolubilidad, se ha generado bastante interés en las siguientes proteínas estructurales: troponina I, troponina T, y las cadenas ligeras de miosina. La base de este interés

clínico surge de la identificación y purificación de formas cardíacas de estas proteínas con alta especificidad tisular, que se discuten adelante con mayor detalle, han permitido el desarrollo de ensayos inmunológicos para la determinación de lesiones miocárdicas.

Miosina, actina y troponina

Las proteínas miosina y actina forman la mayor parte del aparato contráctil de las células musculares. Juntas constituyen el 80% de la proteína de las células musculares. Las proteínas reguladoras troponina y tropomiosina, en asociación con la actina polimerizada, forma los filamentos delgados del sarcómero. La troponina consiste de un complejo de tres subunidades: troponina C, troponina I y troponina T.

5. Troponina T (TnT)

La proteína troponina T, de 37 kilodaltones, tiene un reservorio citosólico que constituye cerca del 6% de su concentración intracelular total. A pesar de encontrarse tanto en el tejido esquelético como en el corazón, la TnT está siendo usada exitosamente como un marcador para la enfermedad cardíaca isquémica debido a que un subtipo encontrado en el tejido miocárdico tiene una homología de solamente 60% con la forma del músculo esquelético. Se han desarrollado anticuerpos altamente específicos que discriminan entre los subtipos de los músculos cardíacos y esqueléticos.

Troponina I (TnI)

Al igual que la TnT, la TnI es parte integrante del aparato contráctil estructural tanto del músculo esquelético como del miocárdico. Se cree que el reservorio citosólico de TnI es el mismo que el de TnT, esto es, cerca del 6% de la concentración total de TnI de las células. La TnI, con un peso molecular de 21 kilodaltones, es ligeramente más pequeña que la TnT. El subtipo cardíaco de la TnI tiene varias regiones de aminoácidos que difieren substancialmente de la forma del músculo esquelético. Estas regiones sirven como base para los inmunoensayos cardíacos específicos.

6. Cadenas ligeras de Miosina (CLMs)

La miosina es una molécula de filamentos largos (540 kD) compuesta por seis cadenas de péptidos, dos de las cuales son pesadas (230 kD) y cuatro son ligeras (CLMs), con pesos moleculares en el rango de 26 kD. Las CLMs están formadas por dos componentes, la cadena ligera de miosina-1 y la cadena ligera de miosina- 2, que juntas constituyen el filamento grueso

del aparato contráctil en el músculo esquelético y miocárdico. Las CLMs de fuentes cardíacas y no cardíacas pueden ser diferenciadas usando anticuerpos específicos para CLMs cardíacas. Debe notarse que el reservorio citosólico para las CLMs es de 0.5% de la cantidad total de células, y solamente cerca del 10% del reservorio citosólico para TnT o TnI.

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 31
“DETERMINACIÓN DE CREATINCINASA (CK)”
DURACION: 40 min.

1. INTRODUCCIÓN

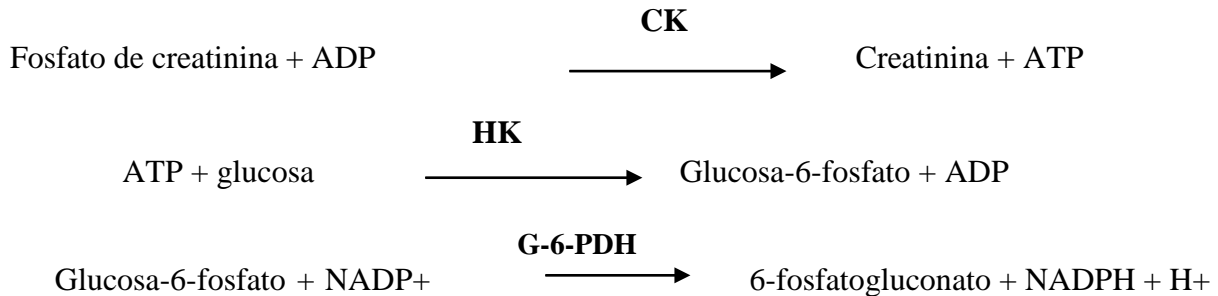
Se encuentra más abundancia de CK en el músculo cardiaco y esquelético. Las otras fuentes en que se encuentra, por orden de mayor a menor actividad, son: cerebro, recto, estómago, vejiga, colon, útero, próstata, intestino delgado y riñón. Se detectan cantidades pequeñas en hígado, placenta y tejido tiroideo. La CK se eleva principalmente cuando hay afecciones o enfermedades que afectan el tejido músculo esquelético, el miocardio o el cerebro. Se observan notables incrementos de CK total en infarto agudo al miocardio, en afecciones del músculo esquelético y después de un choque o colapso circulatorio. En general la CK se eleva en infarto agudo al miocardio y es de gran utilidad clínica para detectarlo. La CK total comienza a incrementarse después de 15 horas de ocurrir un infarto agudo al miocardio. La actividad máxima se observa a las 24 horas y regresa a la normalidad a los 3 días. La miocarditis también provoca actividad notablemente alta de CK durante la fase inflamatoria de la afección.

La CK se eleva además en diversas enfermedades o lesiones del músculo esquelético. Los valores de creatincinasa y sus isoenzimas se utilizan en el diagnóstico y tratamiento de los infartos de miocardio y de miopatías como la distrofia muscular progresiva tipo Duchenne. La creatincinasa (CK) es una enzima del citoplasma y la mitocondria que cataliza tanto la formación de ATP como la fosforilación reversible de creatinina, con el ATP como grupo donador de fosfato. La CK requiere activadores metálicos, particularmente Mg^{2+} , para que la enzima alcance toda su actividad catalítica.



La actividad de CK es de particular importancia en el tejido muscular, en donde cataliza la síntesis de fosfato de creatinina, una molécula que almacena enlaces de alta energía. Para efectuar una contracción muscular se utiliza el grupo fosfato para formar ATP a fin de proporcionar de inmediato energía a los músculos. Hay diversos métodos analíticos para determinar la actividad de CK ya sea mediante la reacción hacia la derecha (creatinina fosfato de creatinina) o la reacción inversa. Estos métodos son análisis de punto final o cinéticos, en los

que se emplean técnicas de espectrofotometría, fluorescencia o bioluminiscencia. El método de referencia para el análisis de CK es el de Oliver y Rosalki, un análisis cinético en el que se emplea la secuencia de reacción—inversal.



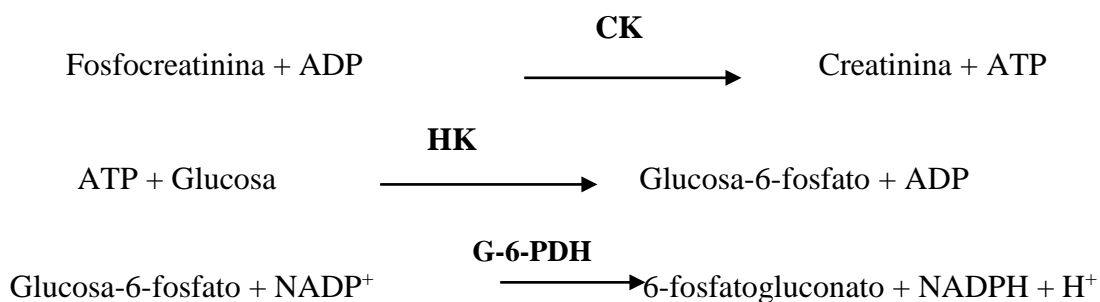
En donde HK = hexocinasa y G-6-PDH = deshidrogenasa de glucosa-6- fosfato.

2. OBJETIVOS

- Conocer la fundamentación del método cinético para cuantificar CK
- Aplicar el manejo adecuado de la técnica para la determinación de la Creatincinasa
- Establecer los valores de referencia de la enzima CK y comparar con el valor de nuestra muestra problema a analizar.
- Definir cuáles son las principales patologías que se presentan en valores altos o bajos de CK.

3. FUNDAMENTACION

Se mide la actividad de la creatincinasa mediante un método cinético enzimático. En la reacción, la creatincinasa cataliza la transferencia de un grupo fosfato del sustrato fosfato de creatina al difosfato de adenosina (ADP). La subsiguiente formación de trifosfato de adenosina (ATP) se mide mediante el uso de dos reacciones asociadas, catalizadas por la hexocinasa (HK) y la glucosa-6- fosfato deshidrogenasa (G6PDH), lo que produce dinucleótido de nicotinamida adenina reducida (NADH) a partir del dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD). El ensayo (CK) contiene el activador monotioglicerol.



HK = hexocinasa

G-6-PDH = deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato.

La velocidad de formación de NADPH determinado fotométricamente es proporcional a la concentración catalítica de CK en la muestra ensayada.

4. METODOLOGÍA

4.1 Material biológico

Suero, plasma heparinizado ó con EDTA.

4.2. Material y Equipo

Pipetas de 2 mL y 200 µL

Fotómetro termostable a 37°C con filtro de 340 nm.

Cronómetro

Incubadora de agua o baño seco

4.8. Interferencias.

La hemólisis interfiere en la prueba a concentraciones superiores a 200 mg/dL de hemoglobina.

5. REACTIVOS, PROCEDIMIENTO, CONDICIONES DE ENSAYO Y DESARROLLO DE LA PRÁCTICA, TOMARLO DEL INSERTO DEL KIT

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 32
“ASPARTATO AMINOTRANSFERASA (TRANSAMINASA GLUTAMICO
OXALACÉTICA)”
DURACION: 40 min.

SE ENCUENTRA DESCRITA EN EL PERFIL HEPATICO

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 33
“DESHIDROGENASA LACTICA”
DURACION: 40 min.

SE ENCUENTRA DESCRITA EN EL PERFIL HEPÁTICO

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 34
“TROPONINA CARDIACA”
DURACION: 40 min.

Se realizará demostrativa

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N0. 35
“CK-MB”
DURACION: 40 min.

Se realizará según inserto proporcionado en el laboratorio.

ANÁLISIS BIOQUÍMICO DE LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
PRÁCTICA N.º 36 (DEMOSTRATIVA/ TEORICA)
“LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO”
DURACION: 1 HR.

1. INTRODUCCIÓN

El LCR ejerce un efecto protector, tanto en el cerebro como en la médula espinal. Entre sus funciones principales se encuentra el mantener a la masa encefálica en suspensión, para disminuir su peso (en adultos, el peso del cerebro desciende de 1400 g en el aire a 50 g suspendido), de esta forma amortigua los efectos de un traumatismo craneal sobre el cerebro.

A través del LCR donde el Sistema Nervioso se nutre de elementos importantes que le llegan al mismo a través de los vasos sanguíneos y al pasar la barrera hematoencefálica forman parte del LCR. Antibióticos, quimioterápicos y otros medicamentos también llegan a las células nerviosas a través del propio LCR. Además de nutrirlo, también es el principal lugar de desecho de elementos, sirviendo así el LCR también de vehículo de sustancias de eliminación celular.

2. OBJETIVOS

- Conocer la fundamentación del estudio del LCR
- Realizar el análisis del LCR laboratorial.
- Conocer las alteraciones más comunes

3. FUNDAMENTO

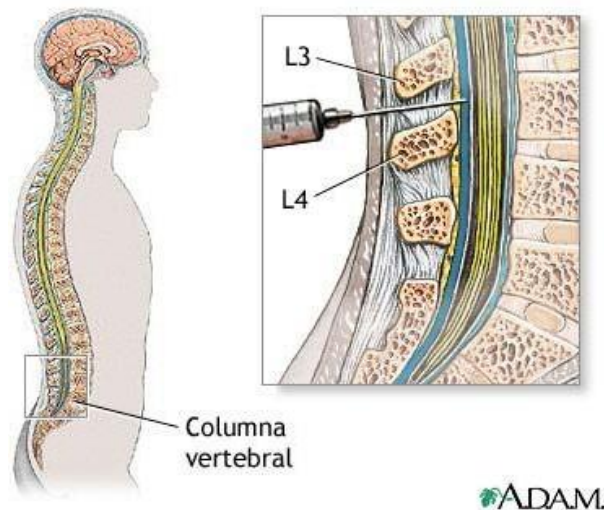
El análisis de LCR deberá efectuarse para comprobar la integridad del sistema nervioso central, sobre todo en procesos infecciosos. Esta prueba es de suma importancia para la detección y diagnóstico de meningitis, encefalitis, sífilis del SNC, tumor de la columna vertebral o esclerosis múltiple. También se utiliza para el diagnóstico diferencial entre infarto cerebral y hemorragia intracraneal o ineficiencia del tratamiento de estas enfermedades.

3.1. Obtención

La obtención del LCR es generalmente por punción lumbar entre la 3ª y 4ª vértebra o entre la 4ª y 5ª (en niños). Generalmente se coloca al paciente en posición sentada se le desinfecta la piel con tintura de yodo y previa anestesia local con novocaína al 1 % se practica la punción. La

punción debe realizarse con un estilete con objeto de evitar la implantación de piel que puede causar la formación de quistes dermoides en la columna. La aguja debe llevar un manómetro y una válvula de tres pasos, de forma que pueda medirse con precisión la presión inicial. La recolección del líquido se hace en tres tubos de ensayo esterilizados. En uno de los tubos conviene colocar una pequeña cantidad de oxalato de potasio, para prevenir una eventual coagulación. Las porciones recogidas en cada tubo son de 3 a 4 ml. Al final se procede nuevamente a medir la presión y se retira la aguja tomando todas las precauciones para evitar la infección del paciente. Se deja descansar sobre la espalda un tiempo recomendándose luego un reposo prolongado para evitar inconvenientes.

Si la primera porción aparece algo coloreada puede deberse a una acción traumática y en este caso los líquidos recogidos en la segunda y tercera porción ya no son hemáticos. Pero si en los tres aparece coloreado puede deberse a una patología como derrame.



3.2. Examen físico

- ❖ Este consta de 3 determinaciones: aspecto, color y presión.

A) Aspecto.

Normalmente límpido, cristalino, transparente, como —agua de roca. Puede ser también claro en los procesos crónicos y en los agudos en que no está demasiado aumentado el contenido celular: poliomiелitis, encefalitis, meningitis —linfocitarias benignas y muchos casos de meningitis tuberculosa o sifilica. Patológicamente se enturbia en las meningitis purulentas de cualquier etiología. En este caso es francamente turbio. En las poliomiелitis graves y en la fase de comienzo o de declinación de las meningitis purulentas, el líquido cefalorraquídeo es sólo ligeramente turbio. En la meningitis tuberculosa habitualmente es claro y transparente, pero a menudo es esmerilado, opalescente y tras su extracción (3 horas) puede dar lugar a un fino retículo fibrinoso en tela de araña llamado —red de Myall. Cuando esto ocurre conviene retirar la red con un asa de platino e investigar la presencia de Mycobacterium tuberculosis. Esto mismo ocurre también, menos frecuente, en las lúes nerviosa y en los tumores del sistema nervioso.

3.2. Color

El líquido cefalorraquídeo es totalmente incoloro. Debe verse igual que el agua destilada visto sobre un fondo blanco. La coloración anormal se adquiere por la presencia de sangre y sus derivados, y puede ser de dos tipos: hemorrágicos y xantocrómicos.

a. Hemorrágico.

El color hemorrágico es rojizo neto y puede ser debido a una hemorragia traumática producida por la extracción, o bien, por hemorragias del interior del sistema nervioso como fracturas óseas, hemorragias cerebrales, hemorragias medulares o meníngeas. Para diferenciar basta observar los 3 tubos con LCR. Si la hemorragia es traumática la coloración desaparecerá en el 2º o 3er. Tubo, en cambio sí es patológica en los 3 tubos será de igual intensidad. La centrifugación de un líquido hemático permite reconocer la antigüedad de la hemorragia: las hemorragias recientes o artefactos dejan sin teñir el líquido centrifugado. La punción directa de un vaso no recoge líquido y se reconoce por la coagulación inmediata de la sangre pura.

b. Xantocrómico.

El color xantocrómico se da cuando el LCR presenta un color amarillento; ocurre por la presencia de oxihemoglobina, metahemoglobina o bilirrubina. Aparece en los procesos hemorrágicos después de algún tiempo, también en las ictericias y en el llamado síndrome de Froin el cual es producido por obstrucción del canal medular por la presencia de tumores en las últimas vértebras lumbares. En este caso aparte de la xantocromía habrá coagulación espontánea de la muestra poco después de su recogida.

Presión.

En un adulto la presión normal es de 80 a 150 mm de agua estando acostado; si está sentado es aproximadamente de 100 a 200 mm de agua. Aumenta fisiológicamente por el llanto, la tos, sonarse, defecación o cualquier esfuerzo.

3.3. Examen químico

Consta principalmente de 3 determinaciones que son: glucosa, proteínas y cloruros.

A) Glucosa (glucorraquia).

Valores normales de 50 a 80 mg/dl en los adultos, en niño, las cifras son ligeramente superiores 70 a 90 mg/dl. Hay una leve diferencia de concentración entre el líquido obtenido por punción lumbar y el extraído de ventrículos o cisterna, pues éste es algo más concentrado en glucosa. No debe perderse de vista que la concentración de glucosa en LCR guarda estrecha relación con la glucemia, de modo que es conveniente determinarla simultáneamente de la glucorraquia y compararlas. Una glucorraquia de 60 puede ser anormal si existe una hiperglucemia más o menos alta.

Ácido láctico.

Aumenta en el prematuro y en las meningitis bacterianas o fúngicas, pero no en las víricas. Aumenta siempre que existe hipoglucorraquia.

Ácido gamma-aminobutírico.

Esta disminuido en el LCR de la enfermedad de Huntington.

B) Proteínas (albunorraquia o proteinorraquia).

Normalmente en el líquido obtenido por punción lumbar hay 15-40 mg/dl. El líquido obtenido por punción cisternal contiene cifras menores (10- 25 mg/dl), y el líquido ventricular mínimas (5-15 mg/dl). De ellas, tan solo 1/5 es globulina. No olvidar que la presencia de sangre en LCR (xantocromía) da inmediatamente lugar a una gran elevación de la cifra de proteínas.

C) Enzimas en LCR

Creatinquinasa elevada por encima de 4 U/l indica lesión cerebral isquémica y su extensión, según la rapidez y grado del aumento en pacientes que han superado un paro cardíaco mediante resucitación. La adenosin-desaminasa –ADA| se eleva notablemente en la meningitis tuberculosa, especialmente en el adulto –donde se obtienen valores a 9 U/l (normalmente 0.4 +/- 0.6)- parámetro de interés diagnóstico por la rapidez de su determinación. Pero también puede elevarse en meningitis por citomegalovirus o Cryptococcus. La betaglucoronidasa aumenta en adenocarcinomas metastatizados. El lisozima no existe en LCR normal; aparece en las meningitis, sobre todo en las infecciones bacterianas agudas, y su actividad es menos elevada en las tuberculosas y escasamente en la neurobrucelosis, meningitis víricas y encefalitis. Está

también aumentado en las leucemias mielocítica y mieloide, así como en algunos tumores.

D) Cloruros.

La concentración normal de cloruros en LCR es de 710-750 mg/dl. Esta concentración se encuentra como valor superior al de la sangre expresado como cloruro de sodio. El aumento de esta concentración no tiene mucho interés clínico; se presenta en casos de insuficiencia renal o de deshidrataciones puras (no en patologías del SNC). Tiene más importancia la disminución de la concentración, ya que esta es muy característica en la meningitis tuberculosa (llegando a cifras inferiores a 500 mg/dl) y piógena.

Resultado:

Examen Físico:

Aspecto:

Color:

Glucosa:

Proteínas:

CKBB:

Cloruros:

ANÁLISIS DE LÍQUIDO SEMINAL

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

PRÁCTICA N0. 37

“ESPERMATOBIOSCOPIA DIRECTA”

DURACION: 1.5 HR.

1. INTRODUCCIÓN

El semen es una solución compuesta, que está formada por elementos celulares que son los espermatozoides provenientes de los testículos y abarca aproximadamente el 5% del volumen total y una parte líquida en donde están suspendidos los espermatozoides denominada plasma seminal. La función del plasma seminal es proporcionar nutrimentos y vehiculización a los espermatozoides hacia el conducto endocervical, donde termina su contribución al proceso de fertilización.

Durante la eyaculación el semen no es secretado en forma homogénea sino en secuencia rápida de tres fracciones:

- 1) La primera fracción se produce en las glándulas bulbouretrales (Cowper), esta fracción es la más pequeña y corresponde más o menos al 10 al 15% del volumen total del semen. Ésta tiene un pH alcalino de aproximadamente 8.4, su función podría ser lavar y lubricar la uretra para preparar la salida de otras fracciones.
- 2) La segunda fracción es la prostática la cual constituye aproximadamente el 20% del volumen total, contiene la mayor parte de los espermatozoides. Es un líquido de aspecto lechoso y un pH ligeramente ácido (6.5), ya que contiene gran cantidad de ácido cítrico además de contener gran cantidad de enzimas proteolíticas, coagulantes y fosfatasa ácida.
- 3) La tercera fracción proviene de las vesículas seminales y constituye aproximadamente el 60% del volumen total del semen y con él sale la última parte de los espermatozoides. Es un líquido viscoso o gelatinoso, de pH neutro o ligeramente alcalino de color amarillo. Esta secreción tiene un elevado contenido en fructosa, principal elemento nutritivo de los espermatozoides, además contiene potasio, ácido cítrico y una sustancia parecida al fibrinógeno, responsable de la coagulación del líquido seminal.

2. OBJETIVO

- Conocer la fundamentación del estudio del líquido seminal
- Realizar el estudio de laboratorio del líquido seminal.

- Conocer las alteraciones más relevantes relacionadas al estudio de líquido seminal o espermatozoides directa.

3. FUNDAMENTO

La Espermatozoides directa es el estudio más importante para evaluar la fertilidad masculina, esta consiste en la evaluación macroscópica y microscópica del semen. El semen está formado por una mezcla de espermatozoides suspendidos en un líquido llamado plasma seminal.

El análisis macroscópico incluye la evaluación de: a) licuefacción, b) aspecto, c) color, d) olor, e) volumen de semen, f) la viscosidad y el g)pH.

- a) Licuefacción: la muestra seminal se licua de 10 a 30 minutos después de emitida la muestra.
- b) Aspecto: recién eyaculado el semen es un coágulo muy viscoso y opaco, su aspecto heterogéneo se modifica después de la licuefacción y se hace homogéneo.
- c) Color: varía de blanco amarillento a blanco grisáceo, un color amarillo intenso se observa en casos de abstinencia sexual prolongada o también puede indicar pioespermia (presencia de gran cantidad de leucocitos) originada por infección. Un color rojizo o parduzco indicarán hemoespermia (presencia de sangre).
- d) Olor: el olor normal es mohoso o acre. El olor fétido es anormal y es de origen infeccioso.
- e) Volumen: el volumen normal varía de 1.5 a 6.0 ml, un promedio es 3.5 ml. Cualquier aumento o disminución es anormal.
- f) Viscosidad: se determina en una muestra liquidificada, pasando de un recipiente a otro y observar si es posible el paso gota a gota sin formar un flujo continuo. También se valora al tomar una varilla de vidrio e introducirla en la muestra y levantarla lentamente hasta formar un filamento el cual deberá medir aproximadamente de 5 a 10 mm. Si esto es así la viscosidad será normal. Si las características están disminuidas o aumentadas se indicará.
- g) pH: es ligeramente alcalino entre 7.2 y 7.8, pH mayor puede indicar alguna infección.

El análisis microscópico está enfocado a las características de los espermatozoides. Se estudian la concentración, la movilidad y la morfología de los mismos.

- a) Para realizar el conteo de espermatozoides basta con utilizar una pipeta de Thoma para

glóbulos blancos y una solución que contiene bicarbonato, formol (que inmoviliza a los espermatozoides) y agua, llamada solución de Macomber y Saunders. Se procede a llenar una cámara de Neubauer y se realiza el conteo en las cuadrículas correspondientes. El número de espermatozoides se multiplica por 50,000. Una concentración de 20 millones de espermatozoides por mililitro, o mayor, se considera normal. La disminución en el número de espermatozoides se denomina oligozoospermia.

b) La movilidad espermática se determina colocando una gota del líquido seminal entre portaobjetos y cubreobjetos y se procede a observar al microscopio. Se clasificaran 200 células en cuatro tipos:

- Tipo A: Espermatozoides con movilidad progresiva rápida. Tipo B:
- Espermatozoides con movilidad progresiva lenta.
- Tipo C: Espermatozoides con movilidad in situ, o no progresiva. Tipo D:
- Espermatozoides inmóviles.

Una muestra se considera normal cuando presenta el 25% o más de movilidad tipo A, o cuando la suma de A más B, es igual o mayor al 50%. La reducción en la movilidad se denomina astenozoospermia. Es importante una excelente movilidad para que los espermatozoides logren la fecundación, ya que éstos tienen que emigrar hasta la trompa de Falopio en donde se llevará a cabo la fecundación del óvulo.

c) La forma de los espermatozoides es característica e indispensable para una función normal. Para realizar esta determinación se realiza un frotis fino y bien secada la preparación se tiñe con Papanicolao, si no se tiene esta se utiliza Giemsa o Fucsina Básica. Se realiza la tinción correspondiente y se realiza el recuento en 200 formas celulares, clasificando cada una de ellas (ver figura). La disminución del número de formas normales se define como teratozoospermia.

Las formas inmaduras se llaman espermátides (se caracterizan por poseer una membrana que va de la cabeza a la cola).

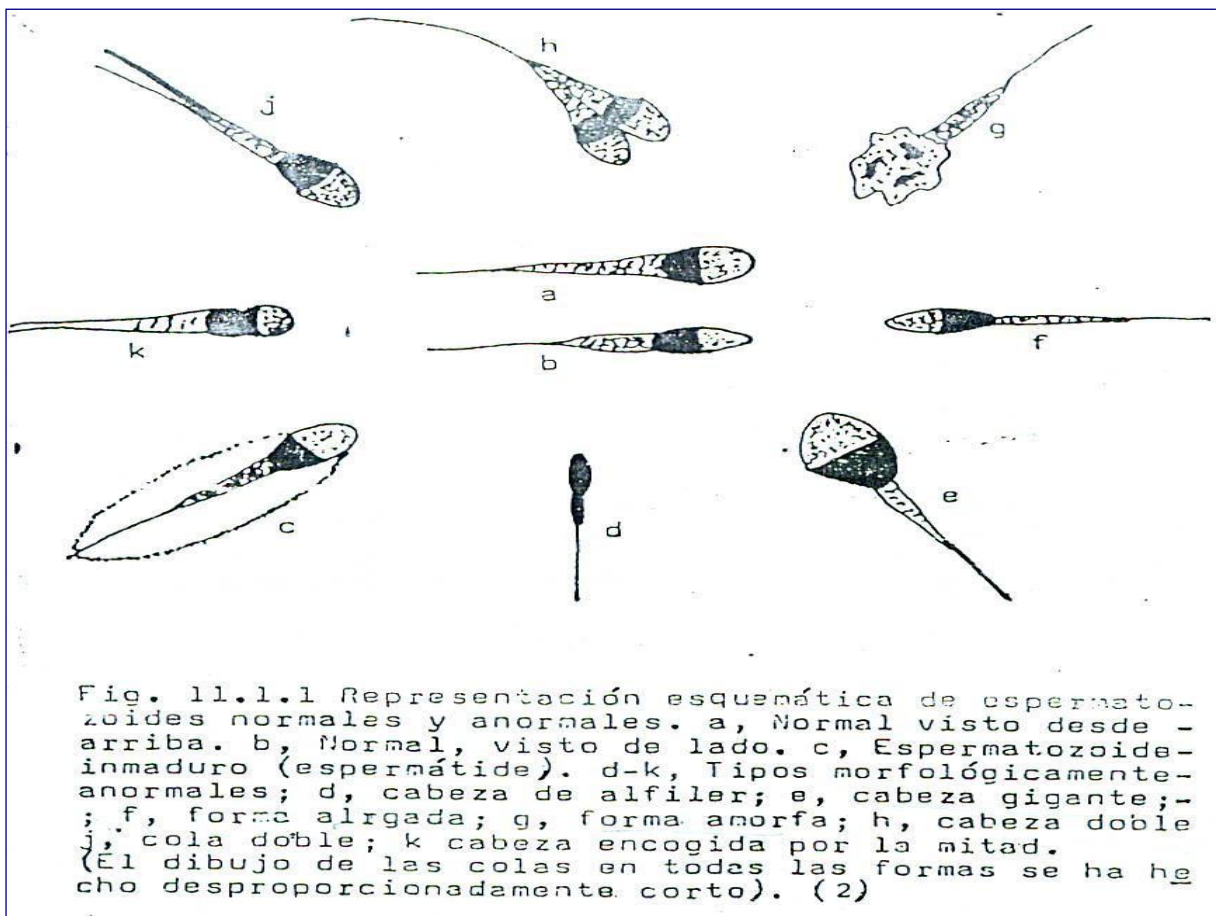
Las anomalías de la cabeza son:

- Macrocefálicos
- Microcefálicos
- Bicefálicos
- Cabeza aguzada
- Redondeada

Amorfa
Cabeza de alfiler

Las anormalidades de la cola son:
Pequeña, Atípica, Doble y Sin cola.

La oligozoospermia, la astenozoospermia y la teratozoospermia, se clasifican a su vez en ligeras, moderadas o severas. Cuando todos los parámetros seminales se encuentran dentro de la normalidad, hablamos de normozoospermia.



Resultados:

Examen microscópico

- ◆ Aspecto:
- ◆ Licuefacción:
- ◆ Color:
- ◆ Olor
- ◆ :
- ◆ pH:
- ◆ Viscosidad:
- ◆

Volumen:

Examen microscópico

- ➡ Motilidad:
 - Progresiva rápida:
 - Progresiva lenta:
 - In Situ o no progresiva
 - Inmóviles

- ➡ Recuento de espermatozoides/mmc
- ➡ Morfología:
 - Normales:
 - Anormales:
(Especificar morfología y porcentaje)

APÉNDICE A: CUESTIONARIOS DE PRÁCTICAS

Cuestionario 1: Unidad 1 y 2

1. Describa de la forma más sencilla un espectrofotómetro y sus diferentes rangos de luz.
2. Defina método colorimétrico
3. En qué consiste la Ley de Beer. Haga un esquema
4. Defina método cinético
5. Qué es una reacción directa
6. Qué es una reacción indirecta
7. Qué es un método químico
8. Qué es un método enzimático
9. Qué es un complejo cromógeno y en qué tipo de método se forma
10. En qué consiste la desproteínización, por qué se realiza y cómo se realiza
11. Qué es una solución problema
12. Qué es una solución Patrón o testigo
13. Qué es una solución Estándar
14. Qué es un blanco de reactivo
15. Qué es un blanco de suero
16. Qué es el reactivo de color
17. Cuándo se usa agua en lugar de un blanco de reactivos
18. En los métodos cinéticos para calibrar además de agua también se utiliza...
19. Qué entendemos por el término —extinción‖ en bioquímica.
20. Qué son los valores de referencia
21. Qué tipos de interferencias existen en los métodos calorimétricos
22. Qué tipos de interferencias existen en los métodos cinéticos
23. Qué es estabilidad, linealidad, especificidad en bioquímica
24. Defina qué es coenzima y cuál es su función en una reacción química
25. Qué características debe tener un método para que usted lo elija para utilizarlo en la medición de un analito.
26. Cómo puede evitar el error aleatorio en el laboratorio

27. Cómo debe ser el pipeteo en la realización de las prácticas y por qué
28. Cuáles son las interferencias químicas más frecuentes
29. Cómo se ha logrado abatir estas interferencias
- 30.Cuál es la meta fundamental en un laboratorio de análisis clínicos
31. Cuál es la meta en un sistema de control de calidad
32. Cuáles son las fuentes de error en la etapa preanalítica
33. Comente acerca de las variables biológicas y las físicas de los individuos y cómo eliminar estos posibles errores en el laboratorio
34. Cuáles son los errores más comunes durante la toma de muestra
35. Cuáles son los errores más comunes después de la toma de muestra
36. Qué se persigue en la etapa preanalítica y cómo se logra
37. De las tres etapas de control de calidad (aunque las tres son igual de importantes), cual considera Usted que es la que hay que cuidar más debido a sus riesgos y a su frecuencia.
38. Qué analitos se elevan por la hemólisis
39. Por qué al tomar muestras de sangre con varios tubos existe un orden exacto y estricto y cuál es.
40. Qué tipo de tubos se utilizan en bioquímica clínica
41. Cuáles son las mejores venas para la punción sanguínea
42. Cuáles son las causales para rechazar una muestra sanguínea

CUESTIONARIO 2 PRÁCTICA GLUCOSA

1. Que es la glucosa
2. Cuál es el propósito de determinar glucosa en el laboratorio
3. Cuál es la especificidad del método y por qué
4. Cuál es la estabilidad del método y por qué
5. Desde el punto de vista bioquímico cuál es la fundamentación de la tolerancia oral a la glucosa
6. Para que sirve fundamentalmente la prueba de glucosa postprandial y cómo se debe realizar
7. Según la OMS cómo se debe realizar una prueba de tolerancia oral a la glucosa (busque información del año 2012)

- 8.Cuál es el umbral renal de glucosa y que significa
9. Cuáles son los valores de referencia actuales para la tolerancia oral a la glucosa y la glucosa postprandial, así como para la hemoglobina glicosilada.
10. Cuál es la relación de la tolerancia oral a la glucosa y la resistencia a la insulina
11. Cuál es la relación de la tolerancia oral a la glucosa, la concentración de insulina y el síndrome metabólico
12. Cuál es el objetivo de realizar un bypass gástrico en un diabético

CUESTIONARIO 3 PRÁCTICAS COMPUESTOS NITROGENADOS NO PROTEICOS

1. Qué es un compuesto nitrogenado no proteico
2. Si yo quiero determinar urea, creatinina y ácido úrico, y mi suero esta turbio ¿puedo desproteinizar sin ninguna alteración en mi resultado, dado que son compuestos nitrogenados?
3. Mencione que tienen en común los compuestos nitrogenados no proteicos
4. De donde proviene la urea, la creatinina y el ácido úrico
5. Estos compuestos se elevan en las enfermedades renales? sí o no y diga por qué
6. Fundamento del método de la uricasa con reacción química
7. Cuál es la importancia de la medición de creatinina
 - a. ¿Evaluar la función renal o la función del músculo?
8. fundamento del método de jaffe con reacción química
9. el amonio es una determinación útil para medir falla renal o falla hepática y por qué
10. fundamento del método de la ureasa con reacción química
11. cuál es la diferencia entre bun y urea y como se saca uno a partir de otro
12. qué es la enfermedad de reye, la miastenia gravis, la eclampsia, síndrome de fanconi, hipotiroidismo, gota y glomerulonefritis.

CUESTIONARIO 4 PROTEÍNAS

1. Cómo se definen las proteínas plasmáticas

2. Cómo se llaman los métodos para proteínas plasmáticas y albúmina y qué tipo de métodos son
3. Que reacción se lleva a cabo en el método para proteínas totales y que tipo de compuesto químico se forma
4. Que reacción se lleva a cabo para determinar albúmina y cuáles son las condiciones de la prueba
5. Cómo puedo calcular el valor de globulinas totales
6. Que indica el índice a/g
7. Escriba los valores de referencia para proteínas plasmáticas totales, albúmina, globulinas y relación a/g
8. Cuál es el valor diagnóstico de la determinación de proteínas totales y albúmina.
9. Cuándo se solicita una electroforesis de proteínas plasmáticas
10. Qué información se obtiene de una inmunolectroforesis y de qué forma se puede sustituir su estudio.

CUESTIONARIO 5 DE LA PRÁCTICA EGO

1. Defina examen general de orina
2. Cuantas partes componen este examen y cómo se llaman
3. Cómo es la recolección correcta de orina
4. Realice una tabla donde indique qué indica cada uno de los parámetros que se determinan.
5. Cuál es la forma correcta del uso de la tira para orina

CUESTIONARIO 6 DE LA PRÁCTICA DEPURACIÓN DE CREATININA

1. Defina índice de filtración glomerular
2. Para qué sirve la prueba de depuración de creatinina
3. Para qué sirve la prueba de la cistatina c
4. La fórmula de c-g propuesta en la práctica, fue diseñada para ...
5. Cuáles son los errores más comunes de la depuración de creatinina
6. Por qué la mejor depuración es la de creatinina, aunque existen muchas otras

depuraciones como la de urea, glucosa, etc.

CUESTIONARIO 7 DE LA PRÁCTICA PRUEBAS FUNCIONALES HEPATICAS

1. Explique cuál es la diferencia entre bilirrubina Total y bilirrubina Directa:
2. ¿Qué significan las siglas DMSO, y cuál es la diferencia con la cetrimida?
3. ¿Qué mide la ictericia hepática, la prehepática y la poshepática?
4. De cada una de las pruebas que forman las pruebas funcionales hepáticas hacer lo siguiente:
 - a) Nombre el método y escriba la reacción (si el método no tiene nombre no lo indique). Escriba además que tipo de método es y cuál es su especificidad y estabilidad.
 - b) Indique qué función del hígado evalúa
 - c) Indique en qué patologías sale elevada la prueba
 - d) Indique en qué patologías sale disminuida la prueba(Si no se tiene datos de todas en estos últimos dos aspectos, solo anote lo que se conozca).

De preferencia realice la respuesta 4 en forma de concentrados: ya sea tablas o diagramas.

CUESTIONARIO 8 PRÁCTICA PERFIL PANCREÁTICO

- 1.Cuál es el principal trastorno que se produce por la falla en la función endócrina del páncreas.
2. Los padecimientos que se producen por la falla en la función exocrina del páncreas son:
3. Defina pancreatitis aguda y pancreatitis crónica
4. Defina metaloenzima
- 5.Cuál es el comportamiento de las enzimas amilasa y lipasa en la pancreatitis aguda
6. Según la guía del imss cuál es la enzima más específica para el diagnóstico de la pancreatitis aguda y por qué.
7. ¿La composición del reactivo es congruente con el fundamento de la práctica? sí o no y por qué.
8. Que determinaciones de laboratorio se solicitan al momento de ingresar al hospital por una probable pancreatitis aguda

9. Clasifique las determinaciones de laboratorio según se trate: pruebas diagnósticas y pruebas predictivas y diga cuál es la diferencia entre ellas.
10. Según la guía del imss las pruebas de laboratorio son las únicas que sirven para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de la pancreatitis aguda. Conteste ampliamente.

CUESTIONARIO 9 DE LA PRACTICA DE PERFIL CARDIACO

1. Según el cuadro 3 de la guía del imss y la práctica proporcionada, cuales son los mejores marcadores para el infarto agudo al miocardio en sus fases tempranas, y tardía.
2. Según la guía cual es el mejor marcador para el infarto al miocardio, se correlaciona con la información de la práctica.
3. Que es una isoforma o isoenzima. describa las isoenzimas de la ck y la ldh
4. ¿Considera que el perfil enzimático cardiaco ha sido desplazado por las proteínas contráctiles?
5. Realice una gráfica para la ck-mb y otra para las troponinas cardiacas que simulen su comportamiento durante la enfermedad según lo que se estipula en la guía del imss.

CUESTIONARIO PRACTICA LÍQUIDO SEMINAL

1. Qué es el semen
2. Cuantas y cuáles son las fracciones que componen el líquido seminal, cuál es su función y cómo están formadas
3. Qué pruebas se determinan a los análisis microscópicos y cuales los valores de referencia
4. Que pruebas se determinan en el análisis macroscópico y cuáles son los valores de referencia
5. Dibuje las anomalías de los espermatozoides e indique que porcentaje se acepta como normal en un varón fértil
6. Que es infertilidad y esterilidad.
7. ¿Cuándo se solicita un estudio del semen?

CUESTIONARIO DE LA PRÁCTICA DE LCR

1. Describa un L.C.R. normal.
2. Describa las partes que conforman el estudio bioquímico del líquido cefalorraquídeo.
3. Anote los valores de referencia del manual y compárelos con los del artículo si es que este los menciona.
4. Realice una tabla donde mencione los parámetros bioquímicos que se evalúan y anote ahí el valor de referencia en las dos columnas siguientes anote que indican valores menores y mayores a este valor normal.
5. Cuál es la importancia del estudio del L.C.R. en hematología, en patología y en microbiología.

BIBLIOGRAFÍA

- **Ameijeras, Hermida; Tutor Crespo, M J; Tutor Valcarce, J C.** Lipasa y Amilasa total y sus isoenzimas como marcadores de daño pancreático en pacientes tratados con fármacos antiepilépticos. Farm Hosp. Vol 31 No 5 2007.
- **Análisis Químico y Bioquímica en internet.** www.elmedico.net/análisis.htm Ángel, Gilberto; Ángel, Mauricio. **Interpretación Clínica del laboratorio.** Séptima edición. Editorial Médica Panamericana. 2006.
- **Bernard, Henry, John.** El laboratorio en el Diagnóstico Clínico. Editorial Marbán. 2005.
- **Bibiana Madalena, Leticia; Laura Facio, María; Diego Bresciani, Pablo; Emilce Alejandre, Mariel; Alicia Berg, Gabriela; Gangerosa, Margarita; Pizzolato, Marco Antonio.** Apolipoproteína A-1 en nefropatías: su relación con el status renal y las microproteínas urinarias. Acta Bioquim Clin Latinoam. Vol 39 No 3. 2005.
- **Bishop, M.L.** Química Clínica. Principios, Procedimientos y Correlaciones. Ed. Mc Graw Hill. 2006.
- **Blanco I, Fernández F.** Alpha-1-antitrypsin Pi phenotypes S and Z in Spain: an analysis of the published surveys. Respir Med. 95(2): 109-114. 2001
- **Botella Romero, F; Martínez, Alfaro.** Repercusiones nutricionales y manejo de la pancreatitis crónica. Nutr Hosp. Vol 23. pp 59-63. 2008.
- **Bourges Rodríguez, Héctor.** Las dislipoproteinemias. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Cuadernos de Nutrición Vol 2 No mayo-jun 2003.
- **Brown, T. A. Oxford, UK.** Genomes. 2nd ed. BIOS Scientific Publishers Ltd; 2002
- **Bustos B, Raúl; Barrientos, Lorena; Fernández, Paola.** Pseudolitiasis biliar inducida por ceftriaxona. Revista Chilena de Pediatría. Vol 72. no. 1 2001.
- **Cataño López Miguel Ángel.** Bioquímica Clínica: De la Patología al Laboratorio. Editorial Ergon, 2007.
- **Corti, Marcelo; Villafañe, Maria; Bare, Patricia; Alves Rosa, Patricia; Cermel, Mónica; Candela, Miguel; Pérez Bianco, Raúl; Tezanos Pinto, Miguel.** Carga Viral em líquido cefalorraquídeo de pacientes hemofílicos HIV-1 positivos bajo tratamiento com HAAART. Medicina (Buenos Aires) Vol 61. Argentina 2001
- **Cowan-Oreilly-Stewart-Shepherd.** Bioquímica Clínica Texto Ilustrado. Segunda edición. Editorial harcourt. 2001

- **Cox, Timothy; Sinclair, John.** Molecular Biology in Medicine. Editorial Blackwell Science. USA 2004.
- **D'Ocon, C; García, JM; Vicente. JC.** Fundamentos y Técnicas de Análisis Bioquímico. Editorial Thomson- Paraninfo, 2006.
- **De la Llata Romero, Manuel; Urrusti Sanz, Juan; Aguirre García, Jesús; Sánchez Ramírez, Roberto.** Mujer de 43 años de edad con hipertensión arterial, infección de vías respiratorias, astenia, adinamia, hiporexia y tinte ictérico. Gac Méd Méx Vol 140 No 3. 2004.
- **Dean, Laura; McEntyre, J.R.** Bethesda (MD) The Genetic Landscape of Diabetes [Internet]. National Library of Medicine (US), NCBI; 2004 Jun.
- **Dean, Michael.** Bethesda (MD). The Human ATP-Binding Cassette (ABC) Transporter Superfamily. National Library of Medicine (US), NCBI; 2002 Nov.
- **Deska, Kathleen.** Mosby`s manual of diagnostic and laboratory test. Editorial Pagana 2010.
- **Díaz Hernández, Martha Patricia; Burgos Herrera, Luis Carlos.** ¿Cómo se transporta la glucosa a través de la membrana celular?. IATREIA. VOL 15 No.3 Sep. 2002
- **El Laboratorio Clínico del Siglo XXI 2000.** Sociedad Española de Bioquímica Clínica. <http://www.seqc.es/sigloxxi/doc.html>
- **Fernández Espina, Camilo; Mazziota, Daniel.** Gestión de Calidad en El Laboratorio Clínico. Editorial Panamericana. España. 2005.
- **Forsbach Sánchez, Gerardo; González Obele, Erika; Villanueva Cuellar, Mireya A; Tamez, Héctor E; Rocha Márquez, Justino.** Impacto del nuevo criterio para el diagnóstico de la diabetes gestacional en la estimación de su prevalencia. Rev Invest Clin Vol 55 No 5. 2003.
- **Gallardo, Marlén; Pereira; Giovanna; Grondona, Fernando; Padrón, Rubén; Barrios, María Victoria; Lantigua, Aracelys.** Relación de la alteración espermática en el líquido seminal Con algunos metabolitos del estrés oxidativo. Rev Cubana Invest Biomed. Vol 22 No 2. 2003.
- **Gaw Allan.** Bioquímica Clínica. 2º ed. Editorial Harcourt, 2000
- **Gomis de Barbara; Rovira Loscos; Felú Albiñama; Oyarzábal Irigoyen.** Tratado Sed de Diabetes Mellitus. Editorial Médica Panamericana. 2006.
- **Graff.** Análisis de orina y de los líquidos corporales. Mundt Lilian A, Shanahan Kristy. 2a. Edición. Editorial Médica Panamericana. 2011. Código RB53 M86 2011.

- **Guerra, M; Alvarado, M; Librado, D; Torres, A.** Relación entre La hemoglobina glicosilada, antioxidantes totales y La actividad de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidada (GPx) en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 controlados y no controlados en Bogotá. Universitas Scientiarum, Revista de la Facultad de Ciencias. Vol 10. 2005.
- **Henry John Bernard.** El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico (Todd-Sanford). 20ª. Edición. Editorial Marbán. 2005.
- **Hernández Valencia, Marcelino; Zárate, Arturo.** Esterilidad inexplicable: evaluación médica terapéutica. Perinatol Reprodu Hum. Vol 21. No. 3 Julio- Septiembre 2007.
- **Huerta Torrijos, Jorge; Díaz Barriga, Raúl; Sardiñas Hernández, José de Jesús; Godoy Veja; Ivonne.** Análisis sistemático del equilibrio ácido-base en formato automatizado. Principios básicos y propuesta. Revista de la Asociación Mexicana de Medicina crítica y Terapia intensiva. Vol XV. No. 3. May-Jun. 2001
- **Hulton, S.A.** Evaluación de los cálculos del tracto urinario en niños. Arch Dis Child. Vol 84 pp 320-323. 2001.
- **Ibañez, JI; Sobrado,R; Rivero, M, Olite, JM; Berrozpe, I; Arina E; Metola I; Sesma, J.** Utilidad de La troponina-I, CPK-MB y mioglobina en El diagnóstico del infarto de miocardio y de los procesos de necrosis muscular de origen no cardiaco. Servicio de Bioquímica Clínica. Hospital Virgen del Camino Pamplona. 2004.
- **Jianping Weng, et al.** Sreenin for MODY mutations, GAD antibodies, and type 1 diabetes associated HLA genotypes in women with gestacional diabetes mellitus. Diabetes Care. Vol 25 No. 1 Enero 2002.
- **Juárez Delgado, Francisco Javier.** Cirugía en la obesidad mórbida. Rev Fac Med UNAM Vol 44 No 3 Mayo Junio 2001.
- **Kably Amble, Alberto; Carballo Mondragón, Esperanza; Estévez González, Sergio.** Impacto de las anomalías de la cabeza del espermatozoide como factor pronóstico en la infertilidad de causa no determinada. Ginecol Obstret Mex. Vol 76. No. 3. 2008.
- **King Strasinger, Susan/ Schaub Di Lorenzo, Marjorie.** Análisis de Orina y de los Líquidos Corporales. 5ª. Edición. Ed. Médica-Panamericana. 2010.
- **López-Chiñas, A; Lugo García, JA; Viveros Contreras, C; Olgún Nava, H; Montero**

- López, P; Hernández Merino MA.** Fertilidad y cáncer testicular: relación entre la estirpe histológica y el seminograma. *Rev Mex Urol.* Vol 69. No. 1 pp 13-16. 2009.
- **Mata Cases, Manel.** Diabetes Mellitus tipo 2: Protocolo de Actuación. Grupo de Estudio de la Diabetes en Atención Primaria de Salud (GEDAPS) de la Societat Catalana de Medicina Familiar i Comunitària. Esp. 2005.
 - **Medina Escobedo, Martha; Villanueva-Jorge, Salha; González Hoil, Diane; Medina Escobedo, Carolina.** Cristaluria por oxalato de calcio y ácido úrico, su relación con el Ph, calciuria y uricosuria. *Bioquimia.* Vol 30 No2 2005.
 - **Mérida de la Torre Francisco Javier, Moreno Campoy Elvira Eva .** Manual para técnico superior de laboratorio clínico y biomédico. Ed. Médica-Panamericana. 2015. Código RB38.2 M366 2015
 - **Merriman, Tony.** Entender las causas genéticas de la diabetes. *Diabetes Voice.* Vol 49 No1 marzo, 2004.
 - **Mújica, María Luisa.** “Aprendizaje basado en problemas”. *Rev Fac Med UNAM.* Vol. 45 no. 6 noviembre-diciembre 2002.
 - **Muñoz Calvo, MT.** Síndrome Metabólico. *Pediatr Integral Col XI(7):615-622.* 2007.
 - **Nicoll Diana, McPhee Stephen, Pignone Michael.** Manual de pruebas diagnósticas. El Manual Moderno. 2004.
 - **Prescripción Médica.** El periódico de los Médicos. Año 33 Número 390 Mexico DF. mayo 2010.
 - **Prieto Valtueña Jesús M., Yuste José Ramón. Balcells.** La clínica y el laboratorio: Interpretación de análisis y pruebas funcionales. Exploración de los síndromes. Cuadro biológico de las enfermedades. 21ª. Edición. Editorial Elsevier. 2011.
 - **Ramírez Hernández, Francisco; Hernández Revilla, Marisela; Guzmán Sánchez, Joaquín.** Cambios electrolíticos y ácido-bse en el paciente sometido a nefrectomía para donación renal. *Anestesiología.* Vol 28 No 3. 2005
 - **Reina bouver; Beatriz; Vicenta Paparella, Cecilia; Nestor Feldman, Rodolfo.** Efecto del tabaquismo sobre la espermatogénesis en hombres con infertilidad idiopática. *Arch. Esp. Urol.* 60,3 (273-277). 2007
 - **Revilla Monsalve, Ma. Cristina.** Reproducción Humana. Centro Médico Nacional de México.

Sep 2005.

- **Rodríguez S, Herrera D, Becerra P, Silvia M, Locia J, Martínez M, González Z, Hernández-Aguilar ME.** Prolactina y Cáncer de Próstata. Rev Med UV 2007; 7(2): 26-31.
- **Rodríguez Zapata, M; Sánchez Martínez, L; Ruano Soriano, E; Montes Ramírez, ML.** Protocolo de Indicaciones e interpretación clínica de La inmunolectroforesis de las inmunoglobulinas en La práctica clínica. Medicine. Vol 8 no 25. 2000.
- **Ruiz Reyes Guillermo y Ruíz Argüelles Alejandro.** Fundamentos de interpretación clínica de los exámenes de laboratorio. 2ª. Edición. Ed. Médica-Panamericana. 2010.
- **Sánchez Lozada, Raúl; Camacho Hernández, María Isabel; Vega Chavaje, Gerardo; Garza Flores, José Humberto; Campos Castillo, Carlos; Gutierrez Vega, Rafael.** Pancreatitis Aguda: experiencia de cinco años en el Hospital General de México. Gac Méd Méx. Vol 141 No 2 2005.
- **Sánchez Pozo, Antonio y González de Buitrago.** Concepto e Historia de la bioquímica clínica.
www.uah.es/estudios/asignaturas/descarga_fichero.asp?...660...
- **Sánchez Pozo-González de Buitrago.** Bioquímica Clínica. McGraw Hill Interamericana de España. 2002
- **Soriano Llorca, T; Moy del Barrio, G; Pinar Manzanet JM.** Síndrome RS3PE. Caso clínico. Vol 77. septiembre 2005
- **Stickel, S; Droz, E; Patsenkler, K; Börgli-Stuber, B; Aebi.** Hepatotoxicidad grave después de la ingestión de suplementos nutricionales de Herbalife contaminado con Bacillus subtilis. Journal of Hepatology. Vol 50 No 1 pp 111- 117. 2008
- **Trujillo Arriaga, Héctor Miguel.** La curva de tolerancia a la glucosa oral. Un enfoque alternativo. ContactoS. Vol 6. 2007.
- **Vargas Carrillo, Miguel A; Sánchez Buenfil, Gabriel; Herrera Polanco, Jorge; Vargas Ancona, Lizardo.** Síndrome de ovarios poliquísticos: abordaje diagnóstico y terapéutico. Rev Biomed 2003. Vol 14. No 3. Julio Septiembre 2003.
- **Wilson, MD; Drew, MD; Henry, MD, Relman, MD.** Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades infecciosas. Editorial El Manual Moderno. México 2002.
- **Yucra, Sandra; Gasco, Manuel; Rubio, Julio; González, Gustavo F.** Exposición

ocupacional a plomo y pesticidas organofosforados. Efecto sobre la salud reproductiva masculina. Rev Peru Med Exp. Salud Publica. Vol 25 No. 4. 2008

- **Zárate, Arturo; Basurto Acevedo, Lourdes; Saucedo García, Rennata.** La obesidad: Conceptos actuales sobre fisiopatogenia y tratamiento. Rev Fac Med UNAM. Vol 44 No 2 marzo abril 2001.

REFERENCIAS DE INTERNET

- Academy Clinical Laboratory <http://www.acpls.org/>.
- American Association for Clinical Chemistry <http://www.aacc.org/Pages/default.aspx>
- Biblioteca virtual de salud en Cuba. <http://bvscuba.sld.cu/>
- Clinical Chemistry. <http://www.clinchem.org/>
- Imbiomed. Catálogo de revistas <http://www.imbiomed.com.mx/1/1/catalogo.html>
- Internet Public Library <http://www.ipl.org/>

ANEXOS

ANEXO 1

NORMA Oficial Mexicana NOM-166-SSA1-1997, Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Salud.

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-166-SSA1-1997. PARA LA ORGANIZACION Y FUNCIONAMIENTO DE LOS LABORATORIOS CLINICOS.

JOSE IGNACIO CAMPILLO GARCIA, Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, con fundamento en los artículos 39 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 1o., 2o., 3o. fracción VII, 5o., 6o., 7o., 10, 12, 13 apartado A, 18, 21, 23, 24, 27, 32, 33, 45, 46, 48, 51, 78, 79 y demás relativos de la Ley General de Salud; 3o. fracción XI, 40 fracciones I y XII, 41, 43, 44, 45, 46, 47 fracción I y 52 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 1o., 3o., 5o., 8o., 9o., 10, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 25, 26, 27, 37, 43, 46, 48, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 216, 218, 220, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 229, 233, 238 y 258 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Prestación de Servicios de Atención Médica y 23 fracción III del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud, me permito ordenar la publicación en el **Diario Oficial de la Federación** de la Norma Oficial Mexicana NOM-166-SSA1-1997. Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos.

CONSIDERANDO

Que con fecha 4 de diciembre de 1998, en cumplimiento del acuerdo del Comité y de lo previsto en el artículo 47 fracción I de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, se publicó en el **Diario Oficial de la Federación** el proyecto de la presente Norma Oficial Mexicana, a efecto de que dentro de los siguientes sesenta días naturales posteriores a dicha publicación, los interesados presentaran sus comentarios a la Dirección General de Regulación de los Servicios de Salud.

Que las respuestas a los comentarios recibidos por el mencionado comité, fueron publicadas previamente a la expedición de esta Norma en el **Diario Oficial de la Federación**, en los términos del artículo 47 fracción III de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización.

Que en atención a las anteriores consideraciones, contando con la aprobación del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, se expide la siguiente: Norma Oficial Mexicana NOM-166-SSA1-1997. Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos.

Sufragio Efectivo. No Reelección.

México, D.F., a 14 de septiembre de 1999.- El Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, **José Ignacio Campillo García**.- Rúbrica.

INDICE

Prefacio

0. Introducción.

1. Objetivo y campo de aplicación.
2. Referencias.
3. Definiciones.
4. Especificaciones.
5. Recursos humanos.
6. Recursos materiales y tecnológicos.
7. Principios científicos y éticos.
8. Contratos y procedimientos de servicios de referencia.
9. Aseguramiento de la calidad.
10. Higiene y bioseguridad.
11. Publicidad.
12. Concordancia con normas internacionales y mexicanas.
13. Bibliografía.
14. Observancia de la norma.
15. Vigencia.

PREFACIO

En la elaboración de esta Norma Oficial Mexicana participaron:

SECRETARIA DE SALUD.
Subsecretaría de Regulación y Fomento Sanitario.
Dirección General de Regulación de los Servicios de Salud.
Coordinación de Institutos Nacionales de Salud.

SECRETARIA DE LA DEFENSA NACIONAL.
Dirección General de Sanidad Militar. Hospital Central Militar. Jefatura de Patología Clínica. Sección de Microbiología.

SECRETARIA DE MARINA.
Dirección General de Sanidad Naval. Dirección de Centro Médico Naval.

SECRETARIA DE SALUD DEL DISTRITO FEDERAL.
Coordinación de Hospitales.
Coordinación de Laboratorios Clínicos.

INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION "DR. SALVADOR ZUBIRAN".

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL.

Dirección de Prestaciones Médicas. Coordinación de Planeación e Infraestructura Médicas.

INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO.

Subdirección General Médica. Subdirección Técnica. Servicios de Normatividad. Oficina de Laboratorio,
Banco de Sangre y Cuadro Básico.

INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL.

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Jefatura de Laboratorio de Investigación en Bioquímica Clínica.

CENTRO ESTATAL DE LABORATORIOS DE LA SECRETARIA DE SALUD DEL ESTADO DE
JALISCO.

COMITE ESTATAL PARA LA MEJORIA DE LA CALIDAD DE LOS LABORATORIOS CLINICOS.

PETROLEOS MEXICANOS.

Gerencia de Servicios Médicos. Jefatura de Laboratorios de Análisis Clínicos, Hospital Central Norte;
Jefatura de Laboratorios de Análisis Clínicos, Hospital Central Sur.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.

Facultad de Química.

ASOCIACION MEXICANA DE BIOQUIMICA CLINICA, A.C.

ASOCIACION MEXICANA DE PROPIETARIOS DE LABORATORIOS CLINICOS, A.C.

CONFEDERACION NACIONAL DE QUIMICOS CLINICOS, A.C.

CONSEJO MEXICANO DE PATOLOGIA CLINICA, A.C.

FEDERACION MEXICANA DE PATOLOGIA CLINICA, A.C.

1. Objetivo y campo de aplicación

1.1 La presente Norma Oficial Mexicana tiene por objeto establecer los requisitos que deben satisfacerse para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos.

1.2 La aplicación de la presente norma es obligatoria en el territorio nacional para los profesionales, técnicos y auxiliares para la salud de los sectores público, social y privado que intervengan en la organización y funcionamiento de laboratorios clínicos.

2. Referencias

Para la correcta aplicación de esta Norma es necesario consultar las siguientes:

2.1 NOM-087-ECOL-1995, Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos.

2.2 NOM-009-STPS-1993, Relativa a las condiciones de seguridad e higiene para el almacenamiento, transporte y manejo de sustancias corrosivas, irritantes y tóxicas en los centros de trabajo.

2.3 NOM-012-STPS-1993, Relativa a las condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo donde se produzcan, usen, manejen, almacenen o transporten fuentes generadoras o emisoras de radiaciones ionizantes.

2.4 NOM-114-STPS-1994, Sistema para la identificación y comunicación de riesgos por sustancias químicas en los centros de trabajo.

3. Definiciones

Para efectos de esta Norma Oficial Mexicana, se entenderá por:

3.1 Laboratorios clínicos, a los establecimientos públicos, sociales y privados, independientes o ligados a algún servicio de atención médica, que tengan como fin realizar análisis clínicos y así coadyuvar en el estudio, prevención, diagnóstico, resolución y tratamiento de los problemas de salud.

3.2 Ley, a la Ley General de Salud.

3.3 Reglamento, al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Prestación de Servicios de Atención Médica.

3.4 Secretaría, a la Secretaría de Salud.

3.5 Servicios de referencia, a la realización de análisis clínicos por un laboratorio a solicitud de otro laboratorio.

4. Especificaciones

4.1 Los laboratorios deberán contar con un responsable sanitario cuyas funciones son:

4.1.1 Informar por escrito a la Secretaría, en los términos, forma y periodicidad que la misma determine, los casos de enfermedades transmisibles de notificación obligatoria, así como adoptar las medidas necesarias para la vigilancia epidemiológica, tomando en cuenta lo dispuesto en la ley y demás disposiciones generales aplicables.

4.1.2 Comunicar por escrito a la Secretaría el horario de asistencia al establecimiento, así como cualquier modificación al mismo.

4.1.3 Comunicar por escrito a la Secretaría la fecha de su designación, renuncia o sustitución.

4.1.4 Notificar en su caso al ministerio público y demás autoridades competentes, los casos en que se presuma la comisión de hechos ilícitos.

4.1.5 Atender en forma directa las reclamaciones que se formulen en la prestación de los servicios, y coadyuvar para su resolución, ya sean las originadas por el personal del establecimiento o por profesionales, técnicos o auxiliares independientes que en él presten sus servicios, por servicios de referencia, por el proveedor o por el usuario, sin perjuicio de la responsabilidad profesional en que se incurra.

4.1.6 Vigilar y mantener el buen funcionamiento de la recepción, toma, conservación, transporte y procesamiento de muestras dentro y fuera del establecimiento.

4.1.7 Vigilar que se lleven a cabo los sistemas de control, tanto internos como externos que determine esta norma.

4.1.8 Firmar los reportes de los análisis realizados o, en su caso, vigilar que sean firmados por el personal profesional o técnico por él autorizado y de manera autógrafa.

4.1.9 Vigilar que dentro de los establecimientos a su cargo se apliquen las medidas de seguridad e higiene para la protección de la salud del personal expuesto por su ocupación.

4.1.10 Mantener actualizada la documentación curricular y laboral de su personal.

4.1.11 Las demás que señalen otros ordenamientos legales aplicables.

4.2 Los laboratorios llevarán un registro cronológico de los análisis que realicen. Estos deberán conservarse por un periodo mínimo de seis meses.

4.3 Los informes de resultados de los análisis deberán tener impresos los valores de referencia conforme a las técnicas empleadas, salvo en aquellos casos donde no se requiera.

4.4 Para la obtención de licencia sanitaria o aviso de funcionamiento que ampare el legal funcionamiento del laboratorio, los propietarios y, en su caso, los responsables, deberán presentar ante la autoridad sanitaria, el formato con los datos y requisitos que correspondan al trámite que se realiza, de conformidad con lo dispuesto en el acuerdo por el que se dan a conocer los trámites inscritos en el Registro Federal de Trámites Empresariales que aplica la Secretaría de Salud y se establecen diversas medidas de mejora regulatoria y su anexo único.

4.4.1 Los laboratorios que utilicen fuentes de radiación ionizante, requerirán de licencia sanitaria y únicamente aviso de funcionamiento aquellos que no manejen este tipo de materiales.

4.5 Organización.

Contar con los siguientes documentos actualizados:

4.5.1. Manual de organización que deberá contener como mínimo los apartados siguientes:

4.5.1.1 Índice.

4.5.1.2 Introducción.

4.5.1.3 Atribuciones u objeto.

4.5.1.4 Estructura orgánica.

4.5.1.5 Objetivo.

4.5.1.6 Descripción de funciones.

4.5.2 Manual de procedimientos administrativos que deberá contener como mínimo:

4.5.2.1 Índice.

4.5.2.2 Presentación.

4.5.2.3 Objetivo del manual.

4.5.2.4 Procedimientos.

4.5.2.5 Descripción de actividades.

4.5.2.6 Diagramas de flujo.

4.5.2.7 Formatos e instructivos.

4.5.3 Manual de todos los métodos analíticos en idioma español que deberá contener:

4.5.3.1 Nombre de todos los métodos utilizados.

4.5.3.2 Fundamento.

4.5.3.3 Preparación.

4.5.3.4 Procedimientos.

4.5.3.5 Resultados.

4.5.3.6 Valores de referencia.

4.5.3.7 Bibliografía.

4.5.4 Bitácora de mantenimiento y calibración de equipo que deberá incluir:

4.5.4.1 Nombre del equipo, fabricante y número de serie.

4.5.4.2 Fecha de recibo y fecha de inicio de operaciones del equipo.

4.5.4.3 Fechas de mantenimiento, especificando las calibraciones y verificaciones realizadas al equipo, de acuerdo a un programa de mantenimiento preventivo.

4.5.5 Guía para la toma, identificación, manejo, conservación y transporte de muestras que deberá incluir:

4.5.5.1 Índice.

4.5.5.2 Introducción.

4.5.5.3 Relación de pruebas que se efectuarán.

4.5.5.4 Tipo de muestra que se requiere.

4.5.5.5 Instrucciones y precauciones especiales para la toma y conservación de cada tipo de muestras.

4.5.5.6 En su caso, instrucciones para el transporte de las muestras.

4.5.6 Manual de manejo de equipo en el idioma español que incluya:

4.5.6.1 Nombre del equipo.

4.5.6.2 Procedimientos de uso.

4.5.6.3 Cuidados especiales.

4.5.6.4 Mantenimiento preventivo.

4.5.6.5 Bibliografía.

4.5.7 Manual de seguridad e higiene ocupacional y, en su caso, de seguridad radiológica.

4.5.8 Manual de procedimientos para el manejo de desechos peligrosos, conforme a la NOM-087-ECOL-1995, Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generen en establecimientos que presten atención médica.

4.5.9 Programa de mantenimiento preventivo de instrumentos de medición y equipo utilizado en el establecimiento.

4.5.10 Programa de desinfección y desinfestación del establecimiento.

4.5.10.1 Todos los documentos anteriores podrán integrarse con información en español que el fabricante envíe con los reactivos o equipos, o bien, ser elaborados por el propio laboratorio clínico y quedar contenidos en uno o varios volúmenes.

4.6 Los laboratorios deberán contar con las siguientes áreas:

4.6.1 Registro de pacientes y sala de espera para toma de muestras, para la recepción de solicitudes de exámenes y entrega de resultados.

4.6.2 Toma de muestras.

4.6.3 Área de laboratorio, en la que deberán existir instalaciones eléctricas, hidráulicas y de gas; área de lavado de material, esterilización o antisepsia y secciones para la realización de análisis.

4.6.4 Almacén.

4.6.5 Servicios sanitarios.

5. Recursos humanos

5.1 Contar con un responsable sanitario de laboratorio clínico que podrá ser:

5.1.1 Químico con curriculum orientado al laboratorio clínico y mínimo 3 años de experiencia en el área técnica, comprobable con documentos oficiales.

5.1.2 Médico cirujano con certificado vigente de la especialidad en patología clínica, expedido por el Consejo correspondiente o constancia de grado de maestría o doctorado en las áreas de laboratorio clínico, expedida por institución educativa competente.

5.1.3 Médico, Químico o Biólogo, con grado de maestría o doctorado en las áreas de laboratorio clínico, expedidos por instituciones de educación superior y registrados ante la autoridad competente.

5.2 Contar con personal suficiente e idóneo:

5.2.1 Profesional del área de laboratorio clínico con título y cédula profesional legalmente expedidos y registrados por las autoridades educativas competentes.

5.2.2 Técnico en laboratorio clínico con certificado o diploma legalmente expedido y registrado por la autoridad educativa competente.

5.2.3 Puede contar además con personal de enfermería, auxiliar y administrativo en sus respectivas áreas de competencia.

6. Recursos materiales y tecnológicos

6.1 Los Laboratorios deberán comprobar que cuentan con los recursos materiales y tecnológicos de acuerdo al tipo de análisis que realicen.

6.2 Las jeringas, agujas y lancetas utilizadas para la toma de muestras sanguíneas deberán ser desechables.

7. Principios científicos y éticos

7.1 La prestación de servicios de laboratorio clínico deberá sujetarse a los siguientes principios:

7.1.2 Respetar la personalidad, dignidad e intimidad de todos los usuarios.

7.1.3 Brindar información completa, en términos comprensibles, sobre los servicios y procedimientos a los que se va a someter al paciente, así como los requisitos para su realización.

7.1.4 Mantener la confidencialidad de toda la información relacionada con los resultados de los análisis realizados, excepto cuando sea solicitada por la autoridad competente.

7.1.5 Informar a los usuarios, en su caso, si los procedimientos a los que se va a someter serán utilizados en función de un proyecto de investigación o docencia. En estos casos, será imprescindible que el consentimiento sea realizado por escrito ante dos testigos idóneos, con las formalidades que para tal efecto establezca el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud.

7.1.6 El personal de laboratorio clínico no podrá emitir opiniones ni sugerir interpretaciones sobre los resultados obtenidos, excepto al médico o laboratorio que solicite el servicio de referencia.

7.1.7 Las técnicas y procedimientos realizados en los laboratorios clínicos, se sujetarán a los principios científicos que los sustentan.

7.2 Cuando el médico requiera los servicios de un laboratorio clínico privado, deberá ofrecer cuando menos tres opciones al paciente, no pudiendo condicionar la prestación de sus servicios profesionales, a la presentación de los resultados de un determinado laboratorio exclusivamente.

8. Contratos de servicios de referencia

8.1 Los contratos de servicios de referencia deberán ser por escrito y ajustarse a lo que establece esta Norma y otras disposiciones generales aplicables. En caso de que los servicios de referencia se realicen en el extranjero, los prestadores de los mismos deberán cumplir con las disposiciones reglamentarias del país en el que estén establecidos.

8.2 Los responsables que suscriban los contratos de servicios de referencia asumirán mancomunadamente la responsabilidad de los resultados.

8.2.1 Los resultados podrán transmitirse por medios electrónicos.

9. Aseguramiento de la calidad

9.1 Deberán aplicar un programa interno de control de calidad que incluya las etapas preanalítica, analítica y postanalítica.

9.2 Deberán participar al menos en un programa de evaluación externa de la calidad en el cual deberán integrar los análisis que realice y que incluya el programa.

9.3 Acreditar la evaluación de cada una de las pruebas incluidas en programas externos y desarrollar una investigación dirigida para solucionar la problemática de aquellos análisis en los que la calidad no sea satisfactoria.

10. Higiene y bioseguridad

10.1 La superficie libre por trabajador no podrá ser menor de dos metros cuadrados.

10.2 Todo el personal del laboratorio deberá adoptar las medidas preventivas para su protección en el almacenamiento, transporte y manejo de sustancias tóxicas, e infecciosas; tomando en cuenta los requisitos que señalen las disposiciones generales aplicables en la materia, en particular las normas oficiales mexicanas NOM-087-ECOL-1995, NOM-009-STPS-1993, NOM-012-STPS-1993 y NOM-114-STPS-1994.

10.3 El responsable sanitario deberá informar al personal sobre los riesgos que implica el uso y manejo de sustancias tóxicas, corrosivas o irritantes y, en su caso, fuentes de radiación ionizante; así como, material infectocontagioso y los inherentes a los procesos de las muestras, con el fin de que cumplan con las normas de seguridad correspondiente y utilizar el equipo de protección personal.

11. Publicidad

11.1 Será de carácter informativo sobre el tipo, características y finalidades de la prestación de servicios.

11.2 El mensaje deberá tener contenido orientador, educativo y en idioma español.

11.3 La publicidad no podrá ofrecer técnicas y tratamientos preventivos, curativos o rehabilitatorios de carácter médico o paramédico.

12. Concordancia con normas internacionales y mexicanas

Esta Norma equivale parcialmente con los lineamientos y recomendaciones internacionales para laboratorios de análisis clínicos y no es equivalente con ninguna Norma Mexicana.

13. Bibliografía

13.1 Ley General de Salud. 1984.

13.2 Ley Federal sobre Metrología y Normalización. 1992.

13.3 Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Prestación de Servicios de Atención Médica. 1986.

14. Observancia de la norma

La vigilancia de la aplicación de esta Norma corresponde a la Secretaría de Salud y a los gobiernos de las entidades federativas en sus respectivos ámbitos de competencia.

15. Vigencia

Esta Norma entrará en vigor al día siguiente de su publicación en el **Diario Oficial de la Federación** a excepción de las disposiciones contenidas en los apartados 9.1, 9.2 y 9.3 que entrarán en vigor un año después. Las disposiciones contenidas en los subnumerales 4.5.1, 4.5.2, 4.5.3, 4.5.4, 4.5.5, 4.5.6, 4.5.7, 4.5.8, 4.5.9 y 4.5.10 surtirán sus efectos dos años posteriores a la publicación de esta Norma y las disposiciones contenidas en los subnumerales 5.1.1, 5.1.2 y 5.1.3 entrarán en vigor tres años después de su publicación.

Sufragio Efectivo. No Reelección.

México, D.F., a 14 de septiembre de 1999.- El Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, **José Ignacio Campillo García**.- Rúbrica.

ANEXO 2

NORMA Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

CASSIO LUISELLI FERNANDEZ, Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Medio Ambiente y Recursos Naturales, y ERNESTO ENRIQUEZ RUBIO, Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización, de Regulación y Fomento Sanitario, con fundamento en lo dispuesto en los artículos 32 bis fracciones I, II, IV, V y 39 fracciones I, VIII y XXI de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 4 de la Ley Federal de Procedimiento Administrativo; 5 fracciones V, VI y XIX, 15, 36, 37, 37 Bis, 150, 151, 151 Bis, 160 y 171 de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente; 3 fracciones XIII y XIV, 13, apartado A) fracción I, 45, 116, 117, 118, 128, 129 y 393 de la Ley General de Salud; 38 fracción II, 40, fracciones I, III, V, IV, X y XI, 41, 43, 44 y 47 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 1o., 2o. y 4o. fracciones II, III y IV, 5o., 6o. y 58 del Reglamento de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente en materia de Residuos Peligrosos; 2 fracción I incisos a) y c), y 7o. y 66 del Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios; 10 del Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Prestación de Servicios de Atención Médica; 28, 31 fracción II, 33 y 34 del Reglamento de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 8 fracción V del Reglamento Interior de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales; 2 literal C fracción II del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud y 2, fracciones I, II, III, VII, VIII y IX, 7 fracción XVI, y 12 fracción VI del Decreto por el que se crea la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios, ordenan la publicación en el **Diario Oficial de la Federación** de la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico-infecciosos-Clasificación y especificaciones de manejo, y

CONSIDERANDO

Que en cumplimiento a lo establecido en la fracción I del artículo 47 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, con fecha 1 de noviembre de 2001 se publicó en el **Diario Oficial de la Federación**, con carácter de proyecto la Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-087-ECOL-SSA1-2000, Protección ambiental- Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico-Infecciosos-Clasificación y especificaciones de manejo, mismo que fue elaborado de manera conjunta con la Secretaría de Salud, con el fin de que dentro de los 60 días naturales siguientes a su publicación, los interesados presenten sus comentarios ante el Comité Consultivo Nacional de Normalización para la Protección Ambiental, sito en bulevar Adolfo Ruiz Cortines número 4209, piso 5o., colonia Jardines en la Montaña, código postal 14210, Delegación Tlalpan, Distrito Federal o se enviaron al correo electrónico o al fax que se señalaron. Durante el citado plazo, la Manifestación de Impacto Regulatorio correspondiente estuvo a disposición del público en general para su consulta en el citado domicilio, de conformidad con el artículo 45 del citado ordenamiento.

Que en el plazo de los 60 días antes señalado, los interesados presentaron sus comentarios al proyecto en cuestión, los cuales fueron analizados por el citado Comité, realizándose las modificaciones procedentes al mismo. La Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales publicó las respuestas a los comentarios recibidos en el **Diario Oficial de la Federación** el día 20 de enero de 2003.

Que habiéndose cumplido con el procedimiento establecido en la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, el Comité Consultivo Nacional de Normalización para la Protección Ambiental aprobó la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico-infecciosos-Clasificación y especificaciones de manejo, misma que abroga a su similar NOM-087-ECOL-1995 y su aclaración publicada en el citado órgano informativo el 12 de junio de 1996, Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos

biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que presten atención médica, actualizando el año de su expedición. Por lo expuesto y fundado se expide la siguiente:

**NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-087-ECOL-SSA1-2002, PROTECCION AMBIENTAL-SALUD AMBIENTAL-
RESIDUOS PELIGROSOS BIOLÓGICO-INFECCIOSOS- CLASIFICACION
Y ESPECIFICACIONES DE MANEJO**

INDICE

0. Introducción

1. Objetivo y campo de aplicación

2. Referencias

3. Definiciones y terminología

4. Clasificación de los residuos peligrosos biológico-infecciosos

5. Clasificación de los establecimientos generadores de residuos peligrosos biológico-infecciosos

6. Manejo de residuos peligrosos biológico-infecciosos

7. Grado de concordancia con normas y lineamientos internacionales y con las normas mexicanas tomadas como base para su elaboración

8. Bibliografía

9. Observancia de esta Norma

Apéndice normativo

0. Introducción

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

Con fecha de 7 de noviembre de 1995, se publicó en el **Diario Oficial de la Federación** la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-1995, Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que presten servicios de atención médica.

Los establecimientos de atención médica son regulados por la Secretaría de Salud por lo que en la revisión de la norma mencionada, se incluye a los representantes del sector.

Esta revisión consideró las características de los diferentes tipos de unidades médicas que prestan atención a poblaciones rurales.

Los residuos peligrosos biológico-infecciosos se han venido manejando en términos de las regulaciones ambientales antes señaladas, sin embargo fue necesario actualizar la NOM-087-ECOL-1995, tomándose en consideración las experiencias y competencias de los sectores involucrados en su cumplimiento, con el fin de que sus disposiciones sean operativas y adecuadas para proteger el medio ambiente y la salud de la población en general.

1. Objetivo y campo de aplicación

La presente Norma Oficial Mexicana establece la clasificación de los residuos peligrosos biológico-infecciosos así como las especificaciones para su manejo.

Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria para los establecimientos que generen residuos peligrosos biológico-infecciosos y los prestadores de servicios a terceros que tengan relación directa con los mismos.

2. Referencias

Norma Oficial Mexicana NOM-052-ECOL-1993, Que establece las características de los residuos peligrosos, el listado de los mismos y los límites que hacen a un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente, publicada en el **Diario Oficial de la Federación** el 22 de octubre de 1993. Esta Norma contiene la nomenclatura en términos del Acuerdo Secretarial publicado el 29 de noviembre de 1994, por el cual se actualiza la nomenclatura de 58 normas oficiales mexicanas.

3. Definiciones y terminología

Para efectos de esta Norma Oficial Mexicana, se consideran las definiciones contenidas en la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente, su Reglamento en materia de Residuos Peligrosos, la Ley General de Salud, sus Reglamentos, y las siguientes:

3.1 Agente biológico-infeccioso

Cualquier microorganismo capaz de producir enfermedades cuando está presente en concentraciones suficientes (inóculo), en un ambiente propicio (supervivencia), en un hospedero susceptible y en presencia de una vía de entrada.

3.2 Agente enteropatógeno

Microorganismo que bajo ciertas circunstancias puede producir enfermedad en el ser humano a nivel del sistema digestivo, se transmite vía oral-fecal.

3.3 Bioterio

Es un área o departamento especializado en la reproducción, mantenimiento y control de diversas especies de animales de laboratorio en óptimas condiciones, los cuales son utilizados para la experimentación, investigación científica y desarrollo tecnológico.

3.4 Carga útil

Es el resultado de la sustracción del peso vehicular al peso bruto vehicular.

3.5 Centro de acopio

Instalación de servicio que tiene por objeto resguardar temporalmente y bajo ciertas condiciones a los residuos peligrosos biológico-infecciosos para su envío a instalaciones autorizadas para su tratamiento o disposición final.

3.6 Cepa

Cultivo de microorganismos procedente de un aislamiento.

3.7 Establecimientos generadores

Son los lugares públicos, sociales o privados, fijos o móviles cualquiera que sea su denominación, que estén relacionados con servicios de salud y que presten servicios de atención médica ya sea ambulatoria o para internamiento de seres humanos y utilización de animales de bioterio, de acuerdo con la tabla 1 del presente instrumento.

3.8 Irreconocible

Pérdida de las características físicas y biológico-infecciosas del objeto para no ser reutilizado.

3.9 Manejo

Conjunto de operaciones que incluyen la identificación, separación, envasado, almacenamiento, acopio, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos.

3.10 Muestra biológica

Parte anatómica o fracción de órganos o tejido, excreciones o secreciones obtenidas de un ser humano o animal vivo o muerto para su análisis.

3.11 Organo

Entidad morfológica compuesta por la agrupación de tejidos diferentes que concurren al desempeño de un trabajo fisiológico.

3.12 Prestador de servicios

Empresa autorizada para realizar una o varias de las siguientes actividades: recolección, transporte, acopio, tratamiento y disposición final de residuos peligrosos biológico-infecciosos.

3.13 Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos (RPBI)

Son aquellos materiales generados durante los servicios de atención médica que contengan agentes biológico-infecciosos según son definidos en esta Norma, y que puedan causar efectos nocivos a la salud y al ambiente.

3.14 Sangre

El tejido hemático con todos sus elementos.

3.15 SEMARNAT

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

3.16 SSA

Secretaría de Salud.

3.17 Separación

Segregación de las sustancias, materiales y residuos peligrosos de iguales características cuando presentan un riesgo.

3.18 Tejido

Entidad morfológica compuesta por la agrupación de células de la misma naturaleza, ordenadas con regularidad y que desempeñan una misma función.

3.19 Tratamiento

El método físico o químico que elimina las características infecciosas y hace irreconocibles a los residuos peligrosos biológico-infecciosos.

4. Clasificación de los residuos peligrosos biológico-infecciosos

Para efectos de esta Norma Oficial Mexicana se consideran residuos peligrosos biológico-infecciosos los siguientes:

4.1 La sangre

4.1.1 La sangre y los componentes de ésta, sólo en su forma líquida, así como los derivados no comerciales, incluyendo las células progenitoras, hematopoyéticas y las fracciones celulares o acelulares de la sangre resultante (hemoderivados).

4.2 Los cultivos y cepas de agentes biológico-infecciosos

4.2.1 Los cultivos generados en los procedimientos de diagnóstico e investigación, así como los generados en la producción y control de agentes biológico-infecciosos.

4.2.2 Utensilios desechables usados para contener, transferir, inocular y mezclar cultivos de agentes biológico-infecciosos.

4.3 Los patológicos

4.3.1 Los tejidos, órganos y partes que se extirpan o remueven durante las necropsias, la cirugía o algún otro tipo de intervención quirúrgica, que no se encuentren en formol.

4.3.2 Las muestras biológicas para análisis químico, microbiológico, citológico e histológico, excluyendo orina y excremento.

4.3.3 Los cadáveres y partes de animales que fueron inoculados con agentes enteropatógenos en centros de investigación y bioferios.

4.4 Los residuos no anatómicos

Son residuos no anatómicos los siguientes:

4.4.1 Los recipientes desechables que contengan sangre líquida.

4.4.2 Los materiales de curación, empapados, saturados, o goteando sangre o cualquiera de los siguientes fluidos corporales: líquido sinovial, líquido pericárdico, líquido pleural, líquido Céfaló-Raquídeo o líquido peritoneal.

4.4.3 Los materiales desechables que contengan esputo, secreciones pulmonares y cualquier material usado para contener éstos, de pacientes con sospecha o diagnóstico de tuberculosis o de otra enfermedad infecciosa según sea determinado por la SSA mediante memorándum interno o el Boletín Epidemiológico.

4.4.4 Los materiales desechables que estén empapados, saturados o goteando sangre, o secreciones de pacientes con sospecha o diagnóstico de fiebres hemorrágicas, así como otras enfermedades infecciosas emergentes según sea determinado por la SSA mediante memorándum interno o el Boletín Epidemiológico.

4.4.5 Materiales absorbentes utilizados en las jaulas de animales que hayan sido expuestos a agentes enteropatógenos.

4.5 Los objetos punzocortantes

4.5.1 Los que han estado en contacto con humanos o animales o sus muestras biológicas durante el diagnóstico y tratamiento, únicamente: tubos capilares, navajas, lancetas, agujas de jeringas desechables, agujas hipodérmicas, de sutura, de acupuntura y para tatuaje, bisturís y estiletes de catéter, excepto todo material de vidrio roto utilizado en el laboratorio, el cual deberá desinfectar o esterilizar antes de ser dispuesto como residuo municipal.

5. Clasificación de los establecimientos generadores de residuos peligrosos biológico-infecciosos

5.1 Para efectos de esta Norma Oficial Mexicana, los establecimientos generadores se clasifican como se establece en la tabla 1.

TABLA 1

NIVEL I	NIVEL II	NIVEL III
Unidades hospitalarias de 1 a 5 camas e instituciones de investigación con excepción de los señalados en el Nivel III.	Unidades hospitalarias de 6 hasta 60 camas;	Unidades hospitalarias de más de 60 camas;
Laboratorios clínicos y bancos de sangre que realicen análisis de 1 a 50 muestras al día.	Laboratorios clínicos y bancos de sangre que realicen análisis de 51 a 200 muestras al día;	Centros de producción e investigación experimental en enfermedades infecciosas;
Unidades hospitalarias psiquiátricas.	Bioterios que se dediquen a la investigación con agentes biológico-infecciosos, o	Laboratorios clínicos y bancos de sangre que realicen análisis a más de 200 muestras al día, o
Centros de toma de muestras para análisis clínicos.	Establecimientos que generen de 25 a 100 kilogramos al mes de RPBI.	Establecimientos que generen más de 100 kilogramos al mes de RPBI.

5.2 Los establecimientos generadores independientes del Nivel I que se encuentren ubicados en un mismo inmueble, podrán contratar los servicios de un prestador de servicios común, quien será el responsable del manejo

de los residuos peligrosos biológico-infecciosos.

6. Manejo de residuos peligrosos biológico-infecciosos

6.1 Los generadores y prestadores de servicios, además de cumplir con las disposiciones legales aplicables, deben:

6.1.1 Cumplir con las disposiciones correspondientes a las siguientes fases de manejo, según el caso:

- a) Identificación de los residuos.
- b) Envasado de los residuos generados.
- c) Almacenamiento temporal.
- d) Recolección y transporte externo.
- e) Tratamiento.
- f) Disposición final.

6.2 Identificación y envasado

6.2.1 En las áreas de generación de los establecimientos generadores, se deberán separar y envasar todos los residuos peligrosos biológico-infecciosos, de acuerdo con sus características físicas y biológicas infecciosas, conforme a la tabla 2 de esta Norma Oficial Mexicana. Durante el envasado, los residuos peligrosos biológico-infecciosos no deberán mezclarse con ningún otro tipo de residuos municipales o peligrosos.

TABLA 2

TIPO DE RESIDUOS	ESTADO FISICO	ENVASADO	COLOR
4.1 Sangre	Líquidos	Recipientes herméticos	Rojo
4.2 Cultivos y cepas de agentes infecciosos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Rojo
4.3 Patológicos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Amarillo
	Líquidos	Recipientes herméticos	Amarillo
4.4 Residuos no anatómicos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Rojo
	Líquidos	Recipientes herméticos	Rojo
4.5 Objetos punzocortantes	Sólidos	Recipientes rígidos polipropileno	Rojo

a) Las bolsas deberán ser de polietileno de color rojo traslúcido de calibre mínimo 200 y de color amarillo traslúcido de calibre mínimo 300, impermeables y con un contenido de metales pesados de no más de una parte por millón y libres de cloro, además deberán estar marcadas con el símbolo universal de riesgo biológico y la leyenda Residuos Peligrosos Biológico-Infeciosos (Apéndice Normativo), deberán cumplir los valores mínimos de los parámetros indicados en la tabla 3 de esta Norma Oficial Mexicana.

Las bolsas se llenarán al 80 por ciento (80%) de su capacidad, cerrándose antes de ser transportadas al sitio de almacenamiento temporal y no podrán ser abiertas o vaciadas.

TABLA 3

PARAMETRO	UNIDADES	ESPECIFICACIONES
Resistencia a la tensión	Kg/cm ²	SL: 140 ST: 120
Elongación	%	SL: 150 ST: 400
Resistencia al rasgado	G	SL: 90 ST: 150

SL: Sistema longitudinal.

ST: Sistema transversal.

6.2.2 Los recipientes de los residuos peligrosos punzocortantes deberán ser rígidos, de polipropileno color rojo, con un contenido de metales pesados de no más de una parte por millón y libres de cloro, que permitan verificar el volumen ocupado en el mismo, resistentes a fracturas y pérdidas de contenido al caerse, destructibles por métodos físicos, tener separador de agujas y abertura para depósito, con tapa(s) de ensamble seguro y cierre permanente, deberán contar con la leyenda que indique "RESIDUOS PELIGROSOS PUNZOCORTANTES BIOLOGICO-INFECIOSOS" y marcados con el símbolo universal de riesgo biológico (Apéndice Normativo).

a) La resistencia mínima de penetración para los recipientes tanto para punzocortantes como para líquidos, debe ser de 12.5 N (doce punto cinco Newtons) en todas sus partes y será determinada por la medición de la fuerza requerida para penetrar los lados y la base con una aguja hipodérmica calibre 21 x 32 mm mediante calibrador de fuerza o tensiómetro.

b) Los recipientes para los residuos peligrosos punzocortantes y líquidos se llenarán hasta el 80% (ochenta por ciento) de su capacidad, asegurándose los dispositivos de cierre y no deberán ser abiertos o vaciados.

c) Las unidades médicas que presten atención a poblaciones rurales, con menos de 2,500 habitantes y ubicadas en zonas geográficas de difícil acceso, podrán utilizar latas con tapa removible o botes de plástico con tapa de rosca, con capacidad mínima de uno hasta dos litros, que deberán marcar previamente con la leyenda de "RESIDUOS PELIGROSOS PUNZOCORTANTES BIOLOGICO-INFECIOSOS".

6.2.3 Los recipientes de los residuos peligrosos líquidos deben ser rígidos, con tapa hermética de polipropileno color rojo o amarillo, con un contenido de metales pesados de no más de una parte por millón y libres de cloro, resistente a fracturas y pérdidas de contenido al caerse, destructible por métodos físicos, deberá contar con la leyenda que indique "RESIDUOS PELIGROSOS LIQUIDOS BIOLOGICO-INFECIOSOS" y marcados con el símbolo universal de riesgo biológico (Apéndice Normativo)

En caso de que los residuos líquidos no sean tratados dentro de las instalaciones del establecimiento generador, deberán ser envasados como se indica en la tabla 2 de esta Norma Oficial Mexicana.

6.3 Almacenamiento

6.3.1 Se deberá destinar un área para el almacenamiento temporal de los residuos peligrosos biológico-infecciosos.

Los establecimientos generadores incluidos en el Nivel I de la tabla 1 de esta Norma Oficial Mexicana, quedan exentos del cumplimiento del punto 6.3.5 y podrán ubicar los contenedores a que se refiere el punto 6.3.2 en el lugar más apropiado dentro de sus instalaciones, de manera tal que no obstruyan las vías de acceso.

6.3.2 Los residuos peligrosos biológico-infecciosos envasados deberán almacenarse en contenedores metálicos o de plástico con tapa y ser rotulados con el símbolo universal de riesgo biológico, con la leyenda "RESIDUOS PELIGROSOS BIOLÓGICO-INFECCIOSOS".

6.3.3 El periodo de almacenamiento temporal estará sujeto al tipo de establecimiento generador, como sigue:

(a) Nivel I: Máximo 30 días.

(b) Nivel II: Máximo 15 días.

(c) Nivel III: Máximo 7 días.

6.3.4 Los residuos patológicos, humanos o de animales (que no estén en formol) deberán conservarse a una temperatura no mayor de 4°C (cuatro grados Celsius), en las áreas de patología, o en almacenes temporales con sistemas de refrigeración o en refrigeradores en áreas que designe el responsable del establecimiento generador dentro del mismo.

6.3.5 El área de almacenamiento temporal de residuos peligrosos biológico-infecciosos debe:

a) Estar separada de las áreas de pacientes, almacén de medicamentos y materiales para la atención de los mismos, cocinas, comedores, instalaciones sanitarias, sitios de reunión, áreas de esparcimiento, oficinas, talleres y lavanderías.

b) Estar techada, ser de fácil acceso, para la recolección y transporte, sin riesgos de inundación e ingreso de animales.

c) Contar con señalamientos y letreros alusivos a la peligrosidad de los mismos, en lugares y formas visibles, el acceso a esta área sólo se permitirá al personal responsable de estas actividades.

d) El diseño, construcción y ubicación de las áreas de almacenamiento temporal destinadas al manejo de residuos peligrosos biológico-infecciosos en las empresas prestadoras de servicios, deberán ajustarse a las disposiciones señaladas y contar con la autorización correspondiente por parte de la SEMARNAT.

e) Los establecimientos generadores de residuos peligrosos biológico-infecciosos que no cuenten con espacios disponibles para construir un almacenamiento temporal, podrán utilizar contenedores plásticos o metálicos para tal fin, siempre y cuando cumplan con los requisitos mencionados en los incisos a), b) y c) de este numeral.

6.3.6 Los residuos peligrosos biológico-infecciosos podrán ser almacenados en centros de acopio, previamente autorizados por la SEMARNAT. Dichos centros de acopio deberán operar sistemas de refrigeración para mantener los residuos peligrosos biológico-infecciosos a una temperatura máxima de 4°C (cuatro grados Celsius) y llevar

una bitácora de conformidad con el artículo 21 del Reglamento en materia de Residuos Peligrosos de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente. El tiempo de estancia de los residuos en un centro de acopio podrá ser de hasta treinta días.

6.4 Recolección y transporte externo

6.4.1 La recolección y el transporte de los residuos peligrosos biológico-infecciosos referidos en esta Norma Oficial Mexicana, deberá realizarse conforme a lo dispuesto en los ordenamientos jurídicos aplicables y cumplir lo siguiente:

- a)** Sólo podrán recolectarse los residuos que cumplan con el envasado, embalado y etiquetado o rotulado como se establece en el punto 6.2 de esta Norma Oficial Mexicana.
- b)** Los residuos peligrosos biológico-infecciosos no deben ser compactados durante su recolección y transporte.
- c)** Los contenedores referidos en el punto 6.3.2 deben ser desinfectados y lavados después de cada ciclo de recolección.
- d)** Los vehículos recolectores deben ser de caja cerrada y hermética, contar con sistemas de captación de escurrimientos, y operar con sistemas de enfriamiento para mantener los residuos a una temperatura máxima de 4°C (cuatro grados Celsius).

Además, los vehículos con capacidad de carga útil de 1,000 kg o más deben operar con sistemas mecanizados de carga y descarga.

e) Durante su transporte, los residuos peligrosos biológico-infecciosos sin tratamiento no deberán mezclarse con ningún otro tipo de residuos municipales o de origen industrial.

6.4.2 Para la recolección y transporte de residuos peligrosos biológico-infecciosos se requiere la autorización por parte de la SEMARNAT. Dicho transporte deberá dar cumplimiento con los incisos a), b), d) y e) del numeral 6.4.1 de esta Norma Oficial Mexicana.

6.5 Tratamiento

6.5.1 Los residuos peligrosos biológico-infecciosos deben ser tratados por métodos físicos o químicos que garanticen la eliminación de microorganismos patógenos y deben hacerse irreconocibles para su disposición final en los sitios autorizados.

6.5.2 La operación de sistemas de tratamiento que apliquen tanto a establecimientos generadores como prestadores de servicios dentro o fuera de la instalación del generador, requieren autorización previa de la SEMARNAT, sin perjuicio de los procedimientos que competan a la SSA de conformidad con las disposiciones aplicables en la materia.

6.5.3 Los residuos patológicos deben ser incinerados o inhumados, excepto aquellos que estén destinados a fines terapéuticos, de investigación y los que se mencionan en el inciso 4.3.2 de esta Norma Oficial Mexicana. En caso de ser inhumados debe realizarse en sitios autorizados por la SSA.

6.6. Disposición final

Los residuos peligrosos biológico-infecciosos tratados e irreconocibles, podrán disponerse como residuos no peligrosos en sitios autorizados por las autoridades competentes.

6.7 Programa de contingencias

Los establecimientos generadores de residuos peligrosos biológico-infecciosos y los prestadores de servicios deberán contar con un programa de contingencias en caso de derrames, fugas o accidentes relacionados con el manejo de estos residuos.

7. Grado de concordancia con normas y lineamientos internacionales y con las normas mexicanas tomadas como base para su elaboración

7.1 Esta Norma Oficial Mexicana no concuerda con ninguna Norma Internacional por no existir referencia en el momento de su elaboración, ni existen normas mexicanas que hayan servido de base para su elaboración.

8. Bibliografía

8.1 Althaus H, Sauerwald M, Schrammeck E. Hygienic aspects of waste disposal Zbl Bakt Mikr Hyg, I Abt Orig B. 1983; 178:1-29.

8.2 Anglin AM Collmer JE. Loving TJ. Beltran KA. Coyner BJ. Adal K. Jagger J. Sojka NJ, Farr BM. An outbreak of needlestick injuries in hospital employees due to needles piercing infectious waste containers. Infect Control Hosp Epidemiology 1995; 16:570-6.

8.3 Belkin NL. Medical Waste a minimal Hazard. Infect Control Hosp Epidemiol 1993; 13:75-76.

8.4 Brenniman GR. Allen RJ. Impact of repackaging hazardous (infectious) hospital waste on the indoor air quality of a hospital. Science of the Total Environment. 1993; 128:141-9.

8.5 Birnaum D. Medical Waste Applied Epidemiology. Letters to the Editor. Infect Control Hosp Epidemiol 1993; 14:7-8.

8.6 Cimino JA. Health and safety in the solid waste industry. Am J Public Health 1975; 65:38-46.

8.7 Collins CH. Treatment and disposal of clinical and laboratory waste. Med Lab Sci 1991; 48:324-31.

8.8 Crow S. Infectious waste. Infect Control Hosp Epidemiology 1984; 5:149-50.

8.9 Crow S. Dissolving the problem of infectious medical waste. Infect Control Hosp Epidemiology. 1996; 17:434-7.

8.10 Daschner FD. Chemical Disinfection of medical waste. Infect Control Hosp Epidemiology 1993; 14:306.

8.11 Daschner FD. Disinfection of Medical Waste. Letters to the Editor authors reply Infect Control Hosp Epidemiology 1993; 14:306.

8.12 Daschner FD. The Hospital and Pollution: Role of the Hospital Epidemiologist in Protecting the Environment. In Wenzel R. Prevention and Control of Nosocomial Infection. Third edition William & Wilkins USA 1997; pag. 595-605.

8.13 Decker MD and Schaffer W. The relationship between the Hospital and the Community in Hospital Infection Bennett JV and Brachman editors. Philadelphia 1998. Fourth edition Lypincott-Raven Press. pag 181-188.

8.14 Gardner JS, Favero MS. CDC Guideline for handwashing and hospital environmental control, 1985. Infect Control Hosp Epidemiology 1986; 7:231-33.

8.15 Gerberding JL. Limiting the risks of health care workers. In Sande MA and Volberding PA. The Medical Management of AIDS. W.B. Saunders Company. United States. Fifth edition 1997; pag. 75-85.

8.16 Gerberding JL. Management of occupational exposures to blood-borne viruses, N Engl J Med 1995; 332:444-51.

8.17 G.P. Youmans P. y Paterson H. Sommers. Manual de Infectología. Ed. Interamericana McGraw-Hill 1982; pág. 15.

8.18 Henderson DK et al. Risk for occupational transmission of HIV-1 associated with clinical exposures. Ann Intern. Med 1990; 113:740-746.

8.19 Honeycutt TW. Disinfection off Medical waste. Infect Control Hosp Epidemiol. 1993; 14:305-6.

8.20 Infective Waste in Occupational Health; section seven in Friede A, O'Carroll PW, Nicola RM, Teutsch MW. in CDC Prevention Guidelines. Williams and Wilkins USA, 1997; pag. 1266-70.

8.21 Jager E, Xander L, Ruden H. Hospital wastes. I. Communication: microbiological investigations of hospital wastes from various ward of a big and of smaller hospitals in comparison to household refuse Zbl Hyg. 1989; 188:343-364.

8.22 Keene JH. Medical Waste: A Minimal Hazard. Infect Control Hosp Epidemiol 1991; 12:682-5.

8.23 Ley General de Salud publicada en el **Diario Oficial de la Federación** el 7 de febrero de 1984 (última reforma 4 de junio de 2002).

8.24 Makosfshy D. Cone JE. Installing needle disposal boxes closer to the bedside reduces needle-recapping rates in hospital units. Infect Control Hosp Epidemiol. 1993; 14:140-4.

8.25 Mc Veigh P. OR nursing and environmental ethics. Medical Waste reduction, reuse and recycling. Today's OR-Nurse. 1993; 15:13-8.

8.26 Mose JR, Reinhaler F. Microbial contamination of hospital waste and household refuse. Zbl Bakt Mikr Hyg, I Abt Orig B. 1985:181-98-110.

8.27 Organización Panamericana de la Salud. Manual de Prevención y Control de Infecciones Hospitalarias en la serie HSP-UNI/Manual Operativo PALTEX, 1996, 4: pág. 87-90.

8.28 Petithory JC. De Loye J. Guesnu M. Pariente P. Milgram M. Tardy M. Provoost JP. Prevention of AIDS transmission by syringes and needles in France and Africa. [French] Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine. 1989; 173(4):415-9.

8.29 Resnick et al. Stability and inactivation of HTLV III/LAV under clinical and laboratory environments JAMA 1986; 255:1887-1891.

8.30 Rutala WA, Sarubbi FA. Management of Infectious Waste from Hospitals. Infect Control Hosp Epidemiol 1983; 4:198-201.

8.31 Rutala WA, Weber DJ. Infectious Waste. N Engl J Med 1991; 325:58378-582.

8.32 Rutala WC, Mayhall G. The Society for Hospital Epidemiology of America; Medical Waste Infect Control Hosp Epidemiology. 1991; 12:38-48.

8.33 Strain BA and Groschel DHM. Laboratory Safety and Infectious Waste management. In Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenoer FC, Tenover RH editors. Manual of Clinical Microbiology. ASM Press Washington D.C. Fifth edition 1995; pag. 75-85.

8.34 Streed SA. The Medical Waste Condrum Revisted. Infect Control Hosp Epidemiol 1992; 13:385-6.

8.35 Thornton J. McCally M. Orris P. Weinberg J. Hospital and plastics. Dioxin prevention and medical waste incinerators. Public Health Reports. 1996; 111:299-313.

8.36 Volkow P, Jacquemin B, Vilar-Compte D, Castillo JR. Contact with blood and body fluids of hospital syringes. Implications for regulated medical waste. Salud Pública de México.

8.37 Volkow P. Rangel-Frausto S. Ponce de León Rosales S. Basura hospitalaria: comentarios sobre sus riesgos y su regulación. Enf Infec y Microbiol 1999; 19:1-4.

8.38 Weber DJ, Rutala WA. Environmental Issues and Nosocomial Infection in Wenzel R. Prevention and Control of Nosocomial Infection. Third edition William & Wilkins USA 1997; pag. 492-514.

8.39 Weinstein S, Kotilainen HR, Moore D Gantz, N. Microbiologic contamination of hospital trash from patients on isolation precautions versus standard care. Am J Infect. Control 1988; 16:76.

8.40 Who/PEP/RUD/94.1. General. Managing Medical Wastes in Developing Countries World Health Organization 1994.

8.41 Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Control Sanitario de la Disposición de Organos, Tejidos y Cadáveres de Seres Humanos publicado en el **Diario Oficial de Federación** el 20 de febrero de 1985.

8.42 Censo de Universo de Trabajo 1999/INEGI/estimaciones CONAPO.

9. Observancia de esta Norma

9.1 La SEMARNAT, a través de la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente y la SSA, a través de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios en el ámbito de sus respectivas atribuciones y competencias, vigilarán del cumplimiento de la presente Norma Oficial Mexicana de conformidad con las Bases de Colaboración que celebren entre SSA y SEMARNAT, mismas que se publicarán en el **Diario Oficial de la Federación**. Las violaciones a la misma se sancionarán en los términos de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente, y su Reglamento en materia de Residuos Peligrosos, la Ley General de Salud y sus Reglamentos, así como los demás ordenamientos jurídicos aplicables.

9.2 Los gobiernos del Distrito Federal, de los estados y de los municipios, podrán realizar actos de vigilancia para la verificación del cumplimiento de esta Norma Oficial Mexicana, previa la publicación en el **Diario Oficial de la Federación** de los Acuerdos de Coordinación que se celebren con la SEMARNAT.

9.3 Dentro del marco de los Acuerdos de Coordinación para la Descentralización Integral de los Servicios de Salud, las entidades federativas verificarán el cumplimiento de esta Norma Oficial Mexicana.

TRANSITORIOS

PRIMERO.- Provéase la publicación de esta Norma Oficial Mexicana en el **Diario Oficial de la Federación**.

SEGUNDO.- La presente Norma Oficial Mexicana entrará en vigor a los 60 días posteriores al de su publicación

en el **Diario Oficial de la Federación**.

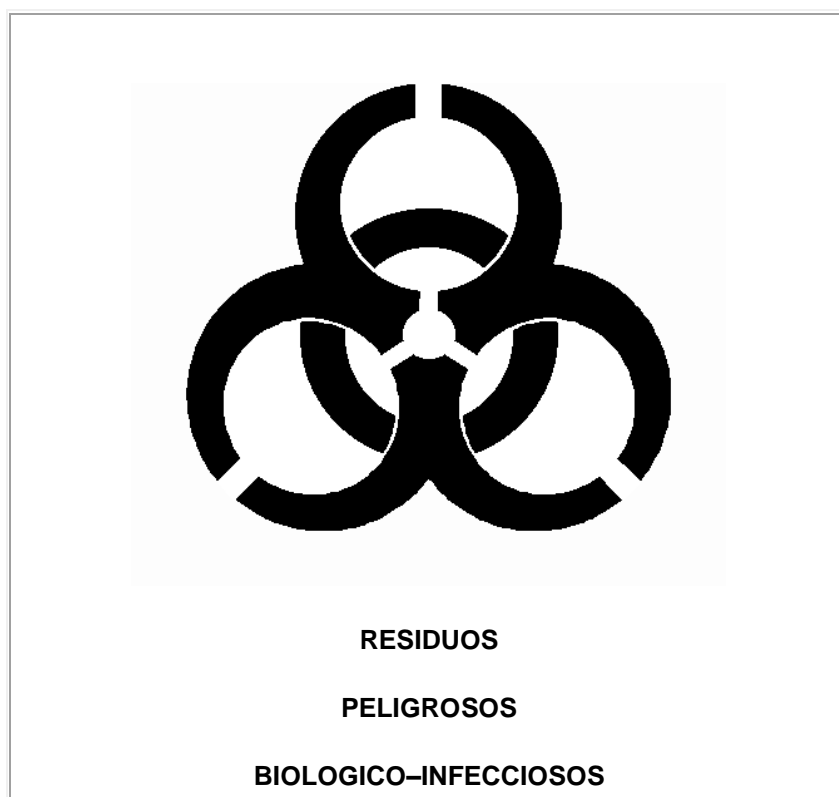
TERCERO.- Los establecimientos generadores de residuos peligrosos biológico-infecciosos deben cumplir con la fase de manejo señalada en el punto 6, a los 90 días posteriores al de la entrada en vigor de la presente Norma, tiempo en el cual seguirá surtiendo sus efectos legales en lo conducente la NOM-087-ECOL-1995.

CUARTO.- La presente Norma Oficial Mexicana **ABROGA a su similar NOM-087-ECOL-1995**, Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que presten atención médica, publicada en el **Diario Oficial de la Federación** el 7 de noviembre de 1995 **y su aclaración** publicada en el citado órgano informativo el 12 de junio de 1996.

México, Distrito Federal, a los veintidós días del mes de enero de dos mil tres.- El Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Medio Ambiente y Recursos Naturales, **Cassio Luiselli Fernández**.- Rúbrica.- El Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización, de Regulación y Fomento Sanitario, **Ernesto Enríquez Rubio**.- Rúbrica.

APENDICE NORMATIVO

SIMBOLO UNIVERSAL DE RIESGO BIOLÓGICO



ANEXO 3

PLAN DE MANEJO DE RESIDUOS PELIGROSOS

1. INTRODUCCIÓN

De acuerdo al Plan General 2030 de la Universidad Veracruzana, es necesaria una universidad socialmente responsable, comprometida con la cultura de la sustentabilidad y donde impere un compromiso con el cuidado del medio ambiente. Acorde con ello, la Facultad de QFB cuenta con un **Plan de Manejo de Residuos Peligrosos** como herramienta para definir los procedimientos técnicos y administrativos necesarios para el manejo de los residuos peligrosos generados en cada uno de los laboratorios de la Facultad de QFB.

DESCRIPCIÓN DEL PROGRAMA

2. INTEGRANTES	Encargados del Programa: MIC Izmit Camacho de la Cerda Dra. Abril de los A. Aguilar Tirado MC Mauro A. Villanueva Lendechy QFB Ma. del Refugio López Cruz Dra. Isabel Pérez Lozano MC María Edith Riaño Sánchez
3. OBJETIVO	Establecer los procedimientos técnicos y administrativos necesarios dentro de la Facultad de QFB para el manejo integral de los residuos peligrosos de acuerdo a la normatividad vigente, con el fin de prevenir el daño al medio ambiente y a la salud humana de acuerdo al compromiso como “Universidad Social y Ambientalmente Responsable”.

4. META	
	La meta es que la disposición de los residuos peligrosos dentro de la Facultad de QFB se realice de acuerdo a este Plan de Manejo, dando como resultado el

	cumplimiento de la normativa vigente y el control sobre los impactos ambientales significativos.
--	--------------------------------------------------------------------------------------------------

5. ALCANCE	
	Este plan es aplicable a todos los laboratorios y áreas de trabajo de la facultad de QFB, desde estudiantes hasta el correspondiente personal académico,técnico, administrativo y manual que intervenga en dichas áreas de trabajo.

MARCO LEGAL

6. MARCO JURÍDICO DEL MANEJO DE RESIDUOS QUÍMICOS PELIGROSOS
<p>El sistema jurídico mexicano está constituido por las disposiciones constitucionales, Leyes Generales y Federales, Reglamentos y Normas Oficiales Mexicanas.</p> <p>Todo lo descrito en el presente plan estará en estricto apego a las políticas institucionales y a la Normatividad Oficial Mexicana en materia de Residuos Peligrosos. A continuación se enlistan las leyes y normas aplicables.</p>

7. NORMATIVIDAD APLICABLE A LOS RESIDUOS QUÍMICOS PELIGROSOS

- Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente.
- Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos.
- Reglamento de la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos.
- Reglamento de la Ley general del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente en Materia de Residuos Peligrosos.
- Reglamento de la Ley general del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente en Materia de Evaluación del Impacto Ambiental.

- Norma Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005. Establece las características, el proceso de identificación, clasificación y los Residuos Peligrosos

- Norma Oficial Mexicana NOM-053-SEMARNAT-1993. Establece el procedimiento para llevar a cabo la prueba de extracción para determinar los constituyentes que hacen un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente.

- Norma Oficial Mexicana NOM-054-SEMARNAT-1993. Establece el procedimiento para determinar la incompatibilidad entre dos o más residuos considerados como peligrosos por la NOM-052- SEMARNAT- 1993.

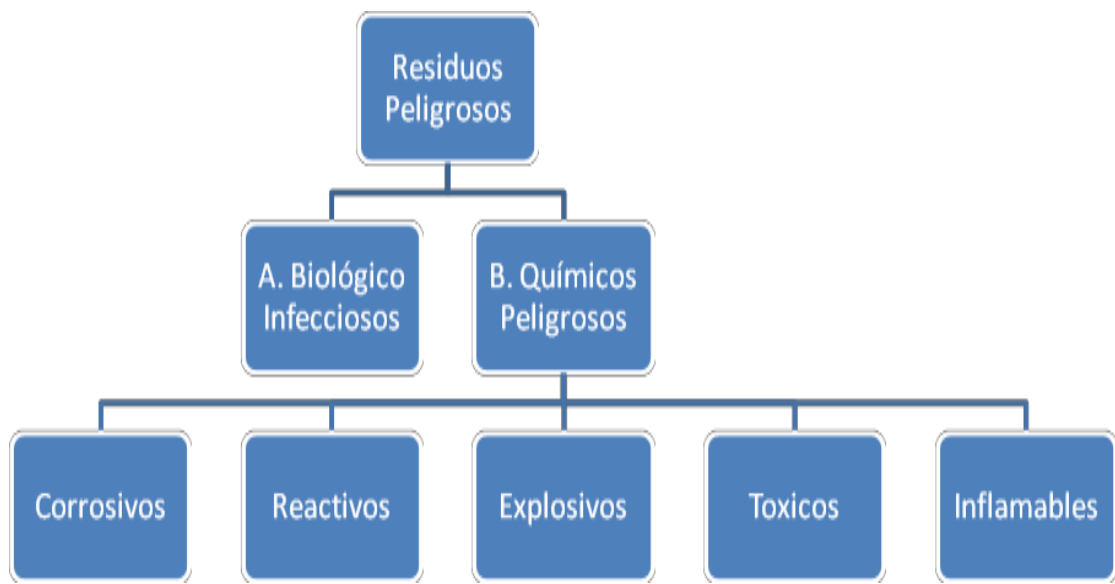
- Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002 Protección ambiental, salud ambiental, y Residuos Peligrosos Biológico Infecciosos. Clasificación y especificaciones de Manejo.


8. OTRA NORMATIVIDAD RELACIONADA **Secretaría del Trabajo y Previsión Social.**


- **Reglamento Federal de Seguridad, Higiene y Medio Ambiente de Trabajo** (D.O.F. 21 de Enero de 1997). Establece las medidas necesarias para la prevención de accidentes y enfermedades de trabajo.
- **NOM-005-STPS-1993**, Relativa a las condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo para el almacenamiento, transporte y manejo de sustancias inflamables y combustibles.
- **NOM-118-STPS-2000**, Establece el sistema para la identificación y comunicación de peligros y riesgos por sustancias químicas peligrosas en los centros de trabajo.
- **NOM-002-SCT2-94**. Listado de las sustancias y materiales peligrosos más usualmente transportados.
- **NOM-007-SCT2-1994**. Marcado de envases y embalajes destinados al transporte de sustancias y residuos peligrosos.
- **NOM-010-SCT-1994**. Disposiciones de compatibilidad y segregación, para el almacenamiento y transporte de sustancias, materiales y residuos peligrosos.


9. CONCEPTOS BÁSICOS	
¿Qué es un Residuo?	<p>Un residuo es todo material o producto que se desecha y que se encuentra en estado sólido, semisólido, líquido o gaseoso, contenido en recipientes o contenedores es decir, cualquier material que ya no sea útil a la persona que lo empleaba, producto de reacciones y/o como resultado de las prácticas de laboratorio; incluye cualquier insumo o materia prima caducada o que haya perdido las características por las cuales fue adquirido. Dicho residuo puede ser susceptible de ser valorizado o sujetarse a tratamiento o disposición final, conforme a lo dispuesto en la LGPGIR y demás ordenamientos que de ella derive. Se pueden clasificar en:</p> <ul style="list-style-type: none">a. Biológico Infecciososb. Químicos Peligrosos
¿Qué es un Residuo Químico Peligroso?	<p>Es aquella sustancia química que posea alguna de las características de corrosividad (C), reactividad (R), explosividad (E), toxicidad (T) e inflamabilidad (I), o que contengan agentes que le confieran peligrosidad; así como envases, recipientes, embalajes y suelos que hayan sido contaminados cuando se transfieran a otro sitio, de conformidad con lo que se establece en la LGPGIR.</p>
¿Qué implicaciones tienen las propiedades de los residuos?	<p>Su forma de manejo depende de cada propiedad y demanda conocer el tipo de precauciones a seguir, de envases a emplear, de almacenamiento que requieren.</p>


¿Qué es un Residuo Biológico Infeccioso?	Es cualquier material que contenga agentes biológico-infecciosos es decir, con cualquier microorganismo capaz de producir enfermedades cuando está presente en concentraciones suficientes, en un ambiente propicio, en un hospedero susceptible, en presencia de una vía de entrada y que puedan causar efectos nocivos a la salud y al ambiente.
-------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------



REACTIVO (R)	
<p>Cuando una muestra representativa en estado líquido o sólido, después de ponerse en contacto con el aire se inflama en un tiempo menor a 5 min, sin que exista una fuente externa de ignición. Cuando se pone en contacto con agua reacciona espontáneamente y genera gases inflamables en una cantidad mayor a 1 L/kg del residuo por hora. Posee en su constitución cianuros o sulfuros liberables, cuando se expone a condiciones ácidas.</p>	

EXPLOSIVO (E)	
<p>Cuando una muestra representativa tiene una constante de explosividad, mayor o igual al nitrobenzeno. Es capaz de producir una reacción o descomposición detonante o explosiva a 25°C y a 1.03 kg/cm² de presión.</p>	

TÓXICO (T)	
<p>Cuando la muestra representativa se somete a la prueba de extracción para toxicidad conforme a la norma oficial mexicana NOM-053-SEMARNAT-1993, el lixiviado contiene cualquiera de los constituyentes listados en las tablas 5, 6 y 7, en concentraciones mayores a los límites señalados en dichas tablas <i>por ejemplo: Arsénico 5.0 mg/L, Níquel 5.0 mg/L, Mercurio 0.2 mg/L, Plata 5.0 mg/L, Cloroformo 6.0 mg/L, Fenol 14.4 mg/L.</i></p>	

INFLAMABLE (I)	
<p>Cuando una solución acuosa contiene más del 24% de alcohol en volumen. Cuando es un líquido y tiene un punto de inflamación inferior a 60°C. Cuando no es líquido pero es capaz de provocar fuego por fricción, absorción de humedad o cambios químicos espontáneos (a 25°C y a 1.03 kg/cm²). O bien, se trata de gases comprimidos inflamables o agentes oxidantes que estimulan la combustión.</p>	

DESCRIPCION DEL PLAN DE MANEJO DE RESIDUOS PELIGROSOS

IDENTIFICACIÓN DE LOS PUNTOS DE GENERACION DE LOS RESIDUOS PELIGROSOS EN LA FACULTAD DE QFB	
LABORATORIO 101	Residuos Químicos Peligrosos
LABORATORIO 102	Residuos Químicos Peligrosos
LABORATORIO 103	Residuos Químicos Peligrosos y RPBI
LABORATORIO 104	Residuos Químicos Peligrosos y RPBI
LABORATORIO 105	RPBI
LABORATORIO DE TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA	Residuos Químicos Peligrosos

11. IDENTIFICACIÓN DE RESIDUOS PELIGROSOS

La identificación de residuos peligrosos de tipo químico se realizará tomado en cuenta que una sustancia ha perdido sus características intrínsecas, sus propiedades han dejado de ser útiles para el usuario, se encuentran fuera de especificaciones, han caducado, así como las sustancias químicas que han perdido, carecen o presentan variación en sus características intrínsecas para ser utilizadas, transformadas respecto a los estándares de diseño o producción originales, por lo que se deben manejar como residuos con “características peligrosas”. Un residuo es considerado peligroso (de acuerdo a la normatividad vigente), cuando independientemente de su estado físico presenta alguna o más de las características de peligrosidad como Corrosividad, Explosividad, Toxicidad e Inflamabilidad. Es importante reconocer la diferencia entre un residuo y una sustancia, con la finalidad de que en las segundas, sean aprovechadas al máximo sus propiedades químicas originales y no se desechen cuando éstas aún no han sido agotadas ya que no serían consideradas como residuos. Una sustancia tóxica es aquella que puede producir en organismos vivos, lesiones, enfermedades, implicaciones genéticas o muerte. Un residuo es cualquier material generado en los procesos de extracción, beneficio, transformación, producción, consumo, utilización, control o tratamiento cuya calidad no permita usarlo nuevamente en el proceso que lo generó

ETIQUETA DE IDENTIFICACION DE RESIDUOS DENTRO DE LA FACULTAD DE QFB

PELIGRO						
CONTIENE UN RESIDUO PELIGROSO						
Nombre del Residuo:						
Características del Residuo:	C <small>Corrosivo</small>	R <small>Reactivo</small>	E <small>Explosivo</small>	T <small>Tóxico</small>	I <small>Inflamable</small>	B <small>Biológico- Infeccioso</small>
Estado físico:	S <small>Sólido</small>		L <small>Líquido</small>		G <small>Gaseoso</small>	
ESTE RESIDUO DEBERÁ SOMETERSE A TRATAMIENTO LEYES FEDERALES PROHÍBEN SU DISPOSICIÓN INADECUADA						
Si usted localiza este contenedor almacenado o desechado de manera inapropiada, de manera que represente un riesgo a la salud o el medio ambiente, por favor repórtelo a las siguientes instancias						
Nombre del generador			Nombre de la empresa responsable de su traslado y/o tratamiento y/o disposición final			
Facultad de Química Farmacéutica Biológica - Xalapa Universidad Veracruzana Dirección: Circuito Gonzalo Aguirre Beltrán s/n, Zona Universitaria, Xalapa de Enríquez, Veracruz. CP 91000 Teléfono: 01 228 842 1759			ECOENTRONO S.A. DE C.V. Dirección: Carretera Las Trancas-Coatepec No. 14. Col. Rafael Guízar y Valencia, Xalapa de Enríquez, Veracruz. CP 91637 Teléfonos: 01 (228) 813-7262 y 813-7241			
Fecha de generación			Fecha de entrega para su traslado			

12. CLASIFICACIÓN DE RESIDUOS PELIGROSOS

A) QUÍMICOS

Para poder saber si los residuos que se generan en cualquier actividad, son o no peligrosos, existe un procedimiento, el cual se detalla a continuación:

1.- Un residuo es peligroso, si está listado en el Artículo 31 de la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos (LGPGIR), la cual define a los siguientes residuos peligrosos:

- a) Aceites lubricantes usados
- b) Disolventes orgánicos usados
- c) Convertidores catalíticos
- d) Sustancias o mezcla de sustancias con metales pesados como plomo
- e) Baterías a base de mercurio o de níquel-cadmio
- f) Lámparas fluorescentes y de vapor de mercurio
- g) Aditamentos que contengan mercurio, cadmio o plomo
- h) Fármacos
- i) Plaguicidas y sus envases, que contengan remanentes de los mismos.
- j) Compuestos orgánicos persistentes como los bifenilos policlorados
- k) Lodos de perforación base aceite, provenientes de la extracción de combustibles fósiles y lodos provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales cuando sean considerados como peligrosos.

2.- Si el residuo no se clasifica como peligroso en el Artículo 31 de la LGPGIR, se debe consultar en los cinco listados de la Norma Oficial Mexicana NOM- 052-SEMARNAT- 2005, que establece las características, procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos (residuos químicos peligrosos por fuente específica o no específica, residuos peligrosos resultado del desecho de productos químicos fuera de especificaciones o caducos (Tóxicos Agudos y crónicos) y residuos sujetos a Condiciones Particulares de Manejo o bien se puede determinar su peligrosidad mediante el análisis CRETI que se realiza, a fin de identificar si el residuo presenta cualquiera de las siguientes características; Corrosividad, Reactividad, Explosividad, Toxicidad ambiental, Inflamabilidad. Es

importante mencionar que la identificación de las características de explosividad es mediante revisión bibliográfica.

3.- Para la elaboración de listados dentro de la facultad, además deberán enlistarse de la siguiente forma:

- Sustancias ácidas
- Sustancias básicas
- Sustancias inorgánicas sólidas
- Sustancias inorgánicas líquidas
- Sustancias orgánicas sólidas
- Sustancias orgánicas líquidas
- Solventes
- Plaguicidas
- Metales Pesados

13. CLASIFICACIÓN DE RESIDUOS PELIGROSOS B) BIOLÓGICO INFECCIOSOS

Para efectos de la NOM 087 se consideran residuos peligrosos biológico-infecciosos los siguientes:

- La sangre
- La sangre y los componentes de ésta, sólo en su forma líquida, así como los derivados no comerciales, incluyendo las células progenitoras, hematopoyéticas y las fracciones celulares o acelulares de la sangre resultante (hemoderivados).
- Los cultivos y cepas de agentes biológico-infecciosos
- Los cultivos generados en los procedimientos de diagnóstico e investigación, así como los generados en la producción y control de agentes biológico- infecciosos.
- Utensilios desechables usados para contener, transferir, inocular y mezclar cultivos de agentes biológico-infecciosos.

- Los tejidos, órganos y partes que se extirpan o remueven durante las necropsias, la cirugía o algún otro tipo de intervención quirúrgica, que no se encuentren en formol.
- Las muestras biológicas para análisis químico, microbiológico, citológico e histológico, excluyendo orina y excremento.
- Los cadáveres y partes de animales que fueron inoculados con agentes enteropatógenos en centros de investigación y bioterios.
- Los residuos no anatómicos

Son residuos no anatómicos los siguientes:

- Los recipientes desechables que contengan sangre líquida.
- Los materiales de curación, empapados, saturados, o goteando sangre o cualquiera de los siguientes fluidos corporales: líquido sinovial, líquido pericárdico, líquido pleural, líquido Céfaló-Raquídeo o líquido peritoneal.
- Los materiales desechables que contengan esputo, secreciones pulmonares y cualquier material usado para contener éstos, de pacientes con sospecha o diagnóstico de tuberculosis o de otra enfermedad infecciosa según sea determinado por la SSA mediante memorándum interno o el Boletín Epidemiológico.
- Los materiales desechables que estén empapados, saturados o goteando sangre, o secreciones de pacientes con sospecha o diagnóstico de fiebres hemorrágicas, así como otras enfermedades infecciosas emergentes según sea determinado por la SSA mediante memorándum interno o el Boletín Epidemiológico.
- Materiales absorbentes utilizados en las jaulas de animales que hayan sido expuestos a agentes enteropatógenos.
- Los objetos punzocortantes
- Los que han estado en contacto con humanos o animales o sus muestras biológicas durante el diagnóstico y tratamiento, únicamente: tubos capilares, navajas, lancetas, agujas de jeringas desechables, agujas hipodérmicas, de sutura, de acupuntura y para tatuaje, bisturís y estiletes de catéter, excepto todo material de vidrio roto utilizado en el laboratorio, el cual deberá desinfectar o esterilizar antes de ser dispuesto como residuo municipal.

TIPO DE RESIDUOS	ESTADO FISICO	ENVASADO	COLOR
4.1 Sangre	Líquidos	Recipientes herméticos	Rojo
4.2 Cultivos y cepas de agentes infecciosos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Rojo
4.3 Patológicos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Amarillo
	Líquidos	Recipientes herméticos	Amarillo
4.4 Residuos no anatómicos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Rojo
	Líquidos	Recipientes herméticos	Rojo
4.5 Objetos punzocortantes	Sólidos	Recipientes rígidos polipropileno	Rojo

En las áreas de generación se deberán separar y envasar todos los residuos peligrosos biológico-infecciosos, de acuerdo con sus características físicas y biológicas infecciosas, conforme a la tabla. Durante el envasado, los residuos peligrosos biológico-infecciosos no deberán mezclarse con ningún otro tipo de residuos municipales o peligrosos.

- 1) Las bolsas deberán ser de polietileno de color rojo translúcido de calibre mínimo 200 y de color amarillo translúcido de calibre mínimo 300, impermeables y con un contenido de metales pesados de no más de una parte por millón y libres de cloro, además deberán estar marcadas con el símbolo universal de riesgo biológico y la leyenda Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos.
- 2) Las bolsas se llenarán al 80 por ciento (80%) de su capacidad, cerrándose antes de ser transportadas al sitio de almacenamiento temporal y no podrán ser abiertas o vaciadas.
- 3) Los recipientes de los residuos peligrosos punzocortantes deberán ser rígidos, de polipropileno color rojo, con un contenido de metales pesados de no más de una parte por millón y libres de cloro, que permitan verificar el volumen ocupado en el mismo, resistentes a fracturas y pérdidas de contenido al caerse, destructibles por métodos físicos, tener separador de agujas y abertura para depósito, con tapa(s) de ensamble seguro y cierre permanente, deberán contar con la leyenda que indique "RESIDUOS PELIGROSOS PUNZOCORTANTES BIOLÓGICO-INFECCIOSOS" y marcados con el símbolo universal de riesgo biológico.

- 4)** Los recipientes de los residuos peligrosos líquidos deben ser rígidos, con tapa hermética de polipropileno color rojo o amarillo, con un contenido de metales pesados de no más de una parte por millón y libres de cloro, resistente a fracturas y pérdidas de contenido al caerse, destructible por métodos físicos, deberá contar con la leyenda que indique “RESIDUOS PELIGROSOS LIQUIDOS BIOLOGICO- INFECCIOSOS” y marcados con el símbolo universal de riesgo biológico.

ALMACENAMIENTO RPBI

- Se deberá destinar un área en la facultad para el almacenamiento temporal de los residuos peligrosos biológico-infecciosos. Los residuos peligrosos biológico-infecciosos envasados deberán almacenarse en contenedores metálicos o de plástico con tapa y ser rotulados con el símbolo universal de riesgo biológico, con la leyenda “RESIDUOS PELIGROSOS BIOLOGICO- INFECCIOSOS”.
- Los residuos patológicos, humanos o de animales (que no estén en formol) deberán conservarse a una temperatura no mayor de 4°C (cuatro grados Celsius), en las áreas de patología, o en almacenes temporales con sistemas de refrigeración o en refrigeradores en áreas que designe el responsable del establecimiento generador dentro del mismo.

14. MEDICIÓN	
Unidades de medición	La medición se realizará de acuerdo al estado del residuo, es decir, si es sólido será en gramos y kilogramos; si es líquido será en mililitros y litros.
Frecuencia	Los residuos se recolectarán al final de cada práctica de laboratorio, se almacenaran temporalmente en el área destinada para ello y posteriormente se procederá al trámite de su retiro de manera semestral en el caso de los Residuos Químicos, para el caso de los Residuos RPBI el retiro se efectuará semanalmente.
Confinamiento	Específico para cada laboratorio y área de refrigeración de la Facultad de QFB.

15. RECOLECCIÓN Y TRANSPORTE INTERNO
<p>La recolección y transporte interno de los residuos químicos peligrosos, así como de los residuos peligrosos biológico infecciosos, hacia el área de almacenamiento temporal, se encuentra a cargo de los técnicos académicos de la Facultad de cada uno de los laboratorios, y es realizada al término de cada práctica de laboratorio. Para la recolección se deben utilizar los contenedores y las etiquetas de recolección específicos para este tipo de residuos, que cumplan con las características de seguridad y que sean confiables para el desarrollo de los trabajos de recolección y transporte interno hacia el área de almacenamiento.</p>

El personal a cargo de la recolección interna de residuos peligrosos químicos, deberá tener conocimiento de las características de los residuos que maneja, de tal forma que responda adecuadamente durante una contingencia o un posible accidente de derrame con este tipo de residuos, independientemente que deberá de reportar el incidente de forma inmediata al área generadora, así como a quien corresponda, con la finalidad de establecer un plan de contingencia. Debe portar equipo de seguridad consistente cuando menos de: bata u overol, guantes adecuados al tipo de residuo manejado, zapatos cerrados y lentes de protección. Si se recolectan gases, deberá utilizar la mascarilla con filtro de aire. Se deberá evitar recolectar al mismo tiempo residuos que sean incompatibles entre sí, para prevenir accidentes.

Los residuos sólidos peligrosos serán almacenados en el Sitio de Almacenamiento Temporal de Residuos Peligrosos que deberá cumplir con las exigencias mínimas, por un período no mayor a 6 meses, en condiciones seguras y con la segregación necesaria para garantizar condiciones de seguridad.

Estas exigencias mínimas tienen relación con:

- No verter residuos en lugares no autorizados o no especificados para ese tipo de residuo.
- Desechar los residuos en forma diferenciada y debidamente identificados.
- Uso obligatorio de los elementos de protección personal.

El sitio de almacenamiento temporal de residuos peligrosos tendrá las siguientes características:

Condiciones básicas para las áreas de almacenamiento, consistentes en:

- a) Estar separadas de las áreas de producción, servicios, oficinas y de almacenamiento de materias primas o productos terminados;
- b) Estar ubicadas en zonas donde se reduzcan los riesgos por posibles emisiones, fugas, incendios, explosiones e inundaciones;

- c) Contar con dispositivos para contener posibles derrames, tales como muros, pretilas de contención o fosas de retención para la captación de los residuos en estado líquido o de los lixiviados;
- d) Cuando se almacenan residuos líquidos, se deberá contar en sus pisos con pendientes y, en su caso, con trincheras o canaletas que conduzcan los derrames a las fosas de retención con capacidad para contener una quinta parte como mínimo de los residuos almacenados o del volumen del recipiente de mayor tamaño;
- e) Contar con pasillos que permitan el tránsito de equipos mecánicos, eléctricos o manuales, así como el movimiento de grupos de seguridad y bomberos, en casos de emergencia;
- f) Contar con sistemas de extinción de incendios y equipos de seguridad para atención de emergencias, acordes con el tipo y la cantidad de los residuos peligrosos almacenados;
- g) Contar con señalamientos y letreros alusivos a la peligrosidad de los residuos peligrosos almacenados, en lugares y formas visibles;
- h) El almacenamiento debe realizarse en recipientes identificados, considerando las características de peligrosidad de los residuos, así como su incompatibilidad, previniendo fugas, derrames, emisiones, explosiones e incendios; y
- i) La altura máxima de las estibas será de tres tambores en forma vertical.

Condiciones para el almacenamiento en áreas cerradas, consistentes en:

- a) No deben existir conexiones con drenajes en el piso, válvulas de drenaje, juntas de expansión, albañales o cualquier otro tipo de apertura que pudieran permitir que los líquidos fluyan fuera del área protegida;
- b) Las paredes deben estar construidas con materiales no inflamables;
- c) Contar con ventilación natural o forzada. En los casos de ventilación forzada, debe tener una capacidad de recepción de por lo menos seis cambios de aire por hora;
- d) Estar cubiertas y protegidas de la intemperie y, en su caso, contar con ventilación suficiente para evitar acumulación de vapores peligrosos y con iluminación a prueba de explosión; y
- e) No rebasar la capacidad instalada del almacén.

Condiciones para el almacenamiento en áreas abiertas, consistentes en:

- a) Estar localizadas en sitios cuya altura sea, como mínimo, el resultado de aplicar un factor de seguridad de 1.5, al nivel de agua alcanzado en la mayor tormenta registrada en la zona;
- b) Los pisos deben ser lisos y de material impermeable en la zona donde se guarden los residuos, y de material antiderrapante en los pasillos. Estos deben ser resistentes a los residuos peligrosos almacenados;
- c) En los casos de áreas abiertas no techadas, no deberán almacenarse residuos peligrosos a granel, cuando éstos produzcan lixiviados; y
- d) En los casos de áreas no techadas, los residuos peligrosos deben estar cubiertos con algún material impermeable para evitar su dispersión por viento.

Por parte de microgeneradores, consistentes en:

- I. En recipientes identificados considerando las características de peligrosidad de los residuos, así como su incompatibilidad, previniendo fugas, derrames, emisiones, explosiones e incendios;
- II. En lugares que eviten la transferencia de contaminantes al ambiente y garantice la seguridad de las personas de tal manera que se prevengan fugas o derrames que puedan contaminar el suelo.

16. RECOLECCIÓN Y TRANSPORTE EXTERNO

Los residuos serán entregados a la empresa de recolección y transporte externo, especializadas para realizar estas actividades y autorizadas por la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), por la Secretaría de Comunicaciones y Transportes (SCT), así como por la autoridades universitarias correspondientes. La entrega de los residuos peligrosos por parte del generador, se acompañará por el manifiesto de recibo, transporte y recepción, mismo que será firmado por la empresa especializada como establecimiento generador de residuos peligrosos.

17. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente.
2. Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos.
3. Reglamento de la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos.
4. Reglamento de la Ley general del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente en Materia de Residuos Peligrosos.
5. Reglamento de la Ley general del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente en Materia de Evaluación del Impacto Ambiental.
6. NOM-052-SEMARNAT-2005
7. NOM-053-SEMARNAT-1993
8. NOM-087-ECOL-SSA1-2002 Protección ambiental-Salud ambiental- Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
9. Reglamento Federal de Seguridad, Higiene y Medio Ambiente de Trabajo
10. NOM-005-STPS-1993
11. NOM-118-STPS-2000
12. NOM-002-SCT2-1994
13. NOM-007-SCT2-1994
14. NOM-010-SCT-1994

ANEXO 4

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA “FLEBOTOMÍA” **DURACION: 30 min.**

1. INTRODUCCIÓN

La flebotomía constituye una de las etapas más importantes en el trabajo del laboratorio clínico. Por una parte representa el primer contacto entre el laboratorio y sus pacientes, y respecto a la muestra sanguínea: la enorme importancia que conlleva una muestra apropiadamente colectada, la seguridad de su origen, y el correcto envasado y transporte constituyen factores fundamentales en la evaluación e informe de los exámenes a realizar. El organismo utiliza la sangre para el transporte de oxígeno, alimento, residuos y otros materiales que hay en el interior del cuerpo, y también para regular la temperatura corporal, los líquidos y el equilibrio ácido básico. Debido a las múltiples funciones de la sangre dentro del cuerpo, los exámenes de ésta o de sus componentes pueden suministrar indicios claves para el diagnóstico de muchas condiciones médicas.

La sangre está compuesta de una porción líquida (plasma) y de una porción celular; el plasma contiene varias sustancias que están disueltas en el líquido. El suero es lo que queda, cuando el fibrinógeno se ha separado del plasma (líquido que queda después de que se deja coagular la sangre en un tubo de ensayo). La porción celular de la sangre consta principalmente de glóbulos rojos, pero también tiene glóbulos blancos y plaquetas. Los tubos al vacío han reemplazado a las jeringas. Estos tubos pueden estar siliconados para evitar la hemólisis de la muestra, vienen preesterilizados por irradiación y presentan tamaños de 2 a 30 mL. Durante la recolección de la sangre y hasta que el suero es separado de los glóbulos rojos, debe reducirse la posibilidad de hemólisis (utilizando agujas de calibre adecuado, tubos limpios y secos, un mezclado suave, etc.) ya que la hemólisis produce la elevación *in Vitro* de la concentración de los metabolitos del suero, al liberarse estos de los eritrocitos, p.ej. fósforo, sodio, hemoglobina, proteínas totales, lípidos, enzimas, bilirrubinas, etc., también puede provocar un efecto de dilución de los componentes químicos del suero, al liberarse sustancias del interior de los eritrocitos. Si se toma varias muestras de sangre, con tubo al vacío y una sola punción venosa hay que tener precaución de poner los tubos en un orden definido para evitar la contaminación cruzada entre tubos. El orden recomendado de la toma, cuando se efectúa una recolección múltiple de muestras es el siguiente:

- ❖ Tubos sin anticoagulante (Rojo).

- ❖ Tubos para pruebas de coagulación. (Azul).
- ❖ Tubos con otros anticoagulantes (Lila, Verde, Verde-Gris y Amarillo).

TAREA 1: INVESTIGAR CUÁL ES EL CONTENIDO DE LOS TUBOS VACUTAINER (TIPO ANTICOAGULANTE Y OTRAS SUSTANCIAS) SEGÚN SU COLOR Y CUÁL ES SU FUNCIÓN. REALIZARLO EN FORMA DE TABLA. PARA ENTREGAR.

2. OBJETIVOS

- Definir y realizar los procedimientos necesarios para minimizar los errores en la toma de muestras.
- Definir y aplicar adecuadamente el procedimiento para la punción venosa.
- Validar la enorme importancia para obtener una muestra apropiadamente colectada, su correcto envasado y transporte.
- Realizar la punción venosa entre los alumnos y utilizar el modelo brazo mecánico para manejo de material utilizado en la punción.

3. MATERIAL

Para desinfectar la piel:

- _ Alcohol isopropílico al 70%.
- _ Algodón.
- _ Gasas.

Para punción de la vena

- _ Ligadura de goma de látex u otra variable comercial (2-5 mm de diámetro por 35-40 cm. de largo).
- _ Tubos al vacío correctamente identificados.
- _ Soporte para tubos VACUTAINER
- _ Aguja desechables estériles calibre 20, 19 o 18.
- _ recipiente para desechos punzo cortantes
- _ Bolsas rojas para desechos biológicos

4. CONDICIONES DE LA TOMA DE MUESTRA DE SANGRE VENOSA

- _ Es necesario que la persona que va a tomar la muestra adopte actitud de confianza, autoseguridad y equilibrio. Conocer y realizar los procedimientos necesarios para minimizar los errores en la toma de muestras.
- _ Debe explicar brevemente al paciente las maniobras que va a realizar para obtener la mayor colaboración posible. Debe tranquilizarse al paciente para disminuir el estado de estrés.
- _ Revisar que todo el material esté listo (tubos rotulados, torundas de algodón, alcohol, ligaduras, jeringa, gradilla, tapones).
- _ El paciente y el operador deben estar en posición confortable y en un sitio con buena iluminación.
- _ El paciente debe estar sentado en una silla y debe extender el brazo sobre el borde de una mesa,

encima de una toalla desechable, para tener acceso fácil y cómodo a la fosa antecubital. Evitar el uso de bancos altos sin respaldo.

_ Es necesario tener en cuenta el tipo de análisis, el volumen de la muestra y la edad del paciente.

Para volúmenes pequeños de muestra es recomendable utilizar el lóbulo de la oreja, pues en caso de utilizar los dedos de la mano se corre el riesgo de infecciones por contaminación en el trabajo de laboratorio. Para un volumen mayor, el sitio más adecuado es la vena que se encuentra en el pliegue anterior de la flexión del codo, se recomienda utilizar la **vena mediana basilica o cefálica**. En los pacientes obesos las venas que se observan azulosas son demasiado superficiales y pequeñas y es mejor no utilizarlas. Es conveniente que el paciente no mire mientras se está realizando la punción.

5. SELECCIÓN DEL SITIO DE PUNCIÓN

VENAS SUPERFICIALES DEL BRAZO

1. V. Cefálica.
2. V. Basilica.
3. V. Media basilica.
4. V. Mediana cefálica.
5. V. Radial accesoria.
6. V. cubital superficial.
7. V. Radial superficial.

TAREA 2. DIBUJAR, COPIAR O IMPRIMIR UN ESQUEMA DONDE SE LOCALICEN ESTAS VENAS. PARA ENTREGAR.

6. PROCEDIMIENTO PARA LA PUNCIÓN VENOSA

6.1 DESARROLLO DE LA PRÁCTICA:

- Verificar que las etiquetas coincidan con la solicitud de las pruebas.
- Se identifica al paciente comprobando su nombre completo y fecha de nacimiento. Si se encuentra inconsciente, debe verificarse su identidad a través de una enfermera o un familiar. No se debe extraer muestra alguna sin identificar adecuadamente al paciente.
- Si se solicita una muestra en ayunas, debe comprobarse que el paciente no ha ingerido alimentos. Hay que dirigirse al paciente e informarle sobre el procedimiento.
- Se debe colocar adecuadamente al paciente, según se encuentre sentado o en decúbito prono, para tener acceso fácil a la fosa antecubital.
- Se debe preparar todo el material, incluidos los tubos, la ligadura, los objetos para limpiar la piel, las jeringas; cuando sea necesario, la aguja estéril y el dispositivo para fijarla.

- Se solicita al paciente que cierre el puño para que las venas resulten más palpables.
- Se selecciona la vena adecuada para la punción
- Se limpia la zona de la punción con una torunda humedecida con alcohol isopropílico al 70%. Se comienza en el punto de la punción y se prosigue la limpieza hacia fuera siguiendo un movimiento espiral.
- Se aplica un torniquete varios centímetros por encima de la zona de punción. No dejarlo más de un minuto.
- Se fija la vena tanto por encima como por debajo del lugar de punción, con ayuda de los dedos pulgar y medio o índice y pulgar.

Se realiza la venopunción:

- a) se penetra la piel con la aguja formando un ángulo de 15° con el brazo y con el bisel hacia arriba, se sigue la dirección de la vena;
- b) se introduce la aguja con suavidad pero con rapidez para reducir las molestias. No hay que —enterrar la aguja;
- c) si se utiliza una jeringa, se tira hacia atrás del émbolo, con tensión lenta y uniforme a medida que la sangre va fluyendo en su interior; si se utiliza un tubo al vacío, en cuanto la aguja haya penetrado en la vena se dirigirá el tubo todo lo posible hacia delante apoyándose en el dispositivo de sujeción (de la misma forma en que se introduce el émbolo de una jeringa). Al mismo tiempo mantenga firmemente la aguja en su lugar. Una vez que se haya llenado el tubo, se retira cogiéndolo por su extremo y tirando suavemente de él. Se mezcla la sangre con el anticoagulante por inversión suave. Si la muestra ha sido extraída con jeringa se transferirá la sangre a los tubos correspondientes después de retirar la aguja.

TAREA 3. IDENTIFICAR EN UN ESQUEMA LAS DIFERENTES POSTURAS DE LOS PACIENTES AL REALIZAR LA TOMA DE MUESTRA. PARA ENTREGAR

7. CRITERIOS DE LABORATORIO PARA ESPECÍMENES INACEPTABLES

Las causas más frecuentes de rechazo de especímenes sanguíneos son:

1. **Identificación inadecuada.** Cada laboratorio debe determinar la cantidad mínima de información del paciente que debe ser incluida en la solicitud de laboratorio y en el recipiente de la muestra. Esta información incluye generalmente nombre, dirección, habitación, número de identificación, sexo, edad. El flebotomista debe verificar visual y verbalmente la identidad del paciente, comparando su nombre con el de la pulsera de identificación, la prueba requerida y las etiquetas. El tubo y la solicitud de laboratorio deben volverse a controlar para verificar su

identidad luego de ser recibidos. Las diferencias entre el nombre de la solicitud del laboratorio y el envase de la muestra es causa de rechazo de ésta.

2. Volumen de sangre inadecuado recogido en tubos o jeringas con aditivo. La cantidad de aditivo adicionada a un tubo al vacío presupone que éste se llenará totalmente con sangre. Si se extrae menos sangre de la requerida, la cantidad excesiva de aditivo tiene el potencial de afectar adversamente la exactitud de los resultados de las pruebas. El EDTA y citrato de sodio para hematología y coagulación son inaceptables con menos del 100% del llenado del tubo. No se han investigado recomendaciones de tolerancia absoluta para otros aditivos. Hasta ahora, el lineamiento solamente puede alterar sobre los posibles efectos perjudiciales de los aditivos en exceso.

3. Utilización de tubos de recolección inadecuados. En general, el suero es la muestra preferida para la mayoría de los análisis bioquímicos. Los tubos de fluoruro de sodio diseñados para la muestra de glucosa son inapropiados para la mayor parte de los otros procedimientos. Los agentes quelantes son inaceptables para las determinaciones enzimáticas la mayoría de la veces. La heparina es tal vez el anticoagulante que menos afecta los procedimientos de laboratorio, aunque esto depende en gran parte del método.

4. Hemólisis. La hemólisis puede ser el resultado de una venipuntura difícil o de un manejo impropio del espécimen recolectado. La hemólisis también puede resultar de un proceso de la enfermedad que causa la destrucción intravascular de los eritrocitos. La hemólisis visible es inaceptable (mayor a 200 mg/L de hemoglobina) cuando se analizan estas sustancias utilizando ciertos métodos. El grado de interferencia depende del grado de hemólisis, la concentración de la variable analítica y la metodología empleada.

5. Transporte inapropiado. Las muestras para determinación de ácido láctico, gases en sangre, amoníaco y otros procedimientos donde existe una significativa susceptibilidad de éstas al deterioro, no deben ser analizadas si no son transportadas al laboratorio en hielo y dentro de un tiempo preestablecido.

6. Tiempo preanalítico permisible. Cuando el tiempo máximo permisible es excedido, deben tomarse medidas. La falsificación de los resultados será asumida médicamente. El responsable

del laboratorio marcará el resultado obtenido con una nota apropiada, o se negará a llevar a cabo la prueba. La última medida es especialmente aconsejable cuando la conclusión médica puede deducirse del resultado, lo cual es una desventaja para el paciente.

ANEXO 5

INSERTOS DE ANALITOS



GLUCOSE -TR

Glucosa

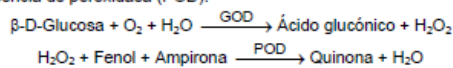
Trinder. GOD-POD

Determinación cuantitativa de glucosa IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

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



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

SIGNIFICADO CLÍNICO

La glucosa es la mayor fuente de energía para las células del organismo; la insulina facilita la entrada de glucosa en las células. La diabetes mellitus es una enfermedad que cursa con una hiperglucemia, causada por un déficit de insulina^{1,5,6}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1 Tampón	TRIS pH 7,4 Fenol	92 mmol/L 0,3 mmol/L
R 2 Enzimas	Glucosa oxidasa (GOD) Peroxidasa (POD) 4 - Aminofenazona (4-AF)	15000 U/L 1000 U/L 2,6 mmol/L
GLUCOSE CAL	Patrón primario acuoso de Glucosa 100 mg/dL	

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT): Disolver (→) el contenido de un vial de R 2 Enzimas en un frasco de R 1 Tampón.

Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

Estabilidad: 1 mes en nevera (2-8°C) o 7 días a Temperatura ambiente (15-25°C).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

GLUCOSE CAL

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

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 505 nm ≥ 0,10.

MATERIAL ADICIONAL

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

MUESTRAS

Suero o plasma, libre de hemólisis¹ y LCR.

El suero debe separarse lo antes posible del coágulo.

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

PROCEDIMIENTO

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

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

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

CÁLCULOS

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

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

CONTROL DE CALIDAD

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

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

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles.

VALORES DE REFERENCIA¹

Suero o plasma:

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

LCR:

$$60 - 80 \% \text{ del valor en sangre}$$

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

CARACTERÍSTICAS DEL METODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,04 mg/dL hasta el límite de linealidad de 500 mg/dL.

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

Precisión:

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
Media (mg/dL)	96,8	241	98,4	248
SD	0,81	1,43	1,55	3,73
CV (%)	0,83	0,59	1,58	1,50

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,0036 Å.

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

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,99.

Ecuación de la recta de regresión: y= 1,0x + 0,12.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No se han observado interferencias con: hemoglobina hasta 4 g/L, bilirubina hasta 20 mg/L, creatinina hasta 100 mg/L, galactosa hasta 1 g/L. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la glucosa^{3,4}.

NOTAS

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

BIBLIOGRAFÍA

- Kaplan A. Glucose. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1032-1036.
- Trinder P. Ann Clin Biochem 1969; 8: 24-33.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref:1001190 Cont. 4 x 125 mL
Ref:1001191 Cont. 4 x 250 mL



HbA_{1c}

Hemoglobina Glicosilada Turbidimetría Látex

Determinación cuantitativa de la hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}) en sangre humana

IVD

Conservar a 2 - 8°C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Este método utiliza la interacción de antígeno y anticuerpo para determinar directamente HbA_{1c} en sangre total. La hemoglobina total y HbA_{1c} tienen la misma absorción inespecífica para las partículas de látex. Cuando se añade el anticuerpo monoclonal anti-HbA_{1c} (ratón) (R2), se forma el complejo látex- HbA_{1c}- anticuerpo HbA_{1c} de ratón. Se produce aglutinación cuando el anticuerpo policlonal IgG de cabra anti-ratón interactúa con el anticuerpo monoclonal. La cantidad de aglutinación es proporcional a la cantidad de HbA_{1c} absorbida en la superficie de las partículas de látex. La cantidad de aglutinación se mide como absorbancia. El valor de HbA_{1c} se obtiene de la curva de calibración.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A lo largo de la vida circulatoria de los hematíes, se forma continuamente hemoglobina A_{1c} por la adición de glucosa al grupo N-terminal de la cadena beta de la hemoglobina. Este proceso, que es no -enzimático, refleja la exposición media de hemoglobina a glucosa durante un periodo prolongado. En un estudio clásico, Trivelli et al 1 mostró que la Hemoglobina A_{1c} se incrementa 2-3 veces en individuos con diabetes en comparación con individuos normales. Varios investigadores han recomendado que Hemoglobina A_{1c} sirve como indicador del control metabólico de diabéticos, ya que los niveles de Hemoglobina A_{1c} alcanzan valores normales para diabéticos en control metabólico.^{2,3,4} La Hemoglobina A_{1c} se ha definido como la 'fracción rápida' de hemoglobina (HbA, A_{1c}) que eluye la primera en una cromatografía de columna con resinas de intercambio catiónico. La hemoglobina no-glicosilada, que consiste en la mayor parte de hemoglobina, se ha designado como HbA₀. Este procedimiento utiliza una reacción antígeno-anticuerpo para determinar directamente la concentración de HbA_{1c}.

REACTIVOS

R1	Latex 0,13%, Tampón, estabilizante.
R2	Anticuerpo monoclonal anti-HbA _{1c} (ratón) 0,05 mg/mL, anticuerpo policlonal IgG de cabra anti-ratón 0,08 mg/dL, tampón, estabilizantes.
R3 (Reactivo hemolizante)	Agua y estabilizantes
Opcional	Ref. 43105 HbA _{1c} CALIBRADOR (4 niveles). Ref. 43106 HbA _{1c} CONTROL (2 niveles)

PRECAUCIONES

Todas las muestras humanas se deben tratar como potencialmente biopeligrosas. Por tanto se deben usar las precauciones universales de tratamiento de muestras (guantes, vestimenta de laboratorio, evitar producción de aerosoles, etc.)

PREPARACION

R1, R2 y R3 están listos para su uso. Mezclar suavemente antes de usar.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el envase cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No utilizar reactivos que hayan sobrepasado la fecha de caducidad.

R1 y R2 una vez abiertos son estables durante al menos 1 mes si se conservan a 2-8°C.

Indicadores de deterioro de los reactivos: Alteraciones en el aspecto físico de los reactivos o valores de los controles fuera del rango establecido.

MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.
- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatable a 37°C para lecturas a 660 nm.
- Equipamiento habitual de laboratorio^(Nota 1).

MUESTRAS

No es necesaria una preparación especial del paciente, ni condiciones de alimentación específicas. No se requiere de otros aditivos ni conservantes especiales aparte de anticoagulantes. Recoger la sangre venosa con EDTA usando técnicas asépticas. HbA_{1c} en sangre total recogida con EDTA es estable durante 1 semana a 2-8°C.⁵

Para determinar HbA_{1c}, se debe preparar un hemolizado para cada muestra:

1. Dispensar 1 mL de Reactivo hemolizante en tubos etiquetados: Calibrador, Control, pacientes, etc. Nota: Son válidos tubos de plástico o vidrio de tamaño apropiado.
2. Colocar 20 µL de sangre total bien mezclada en el tubo correctamente etiquetado. Mezclar.
3. Dejar reposar durante 5 minutos o hasta que sea evidente la lisis completa. Los hemolizados se pueden conservar durante 10 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones de ensayo:
Longitud de onda: 660 nm
Temperatura: 37°C
Paso de luz de la cubeta: 1 cm
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
3. Pipetear en una cubeta ^(Nota 2).

R1 (µL)	360
Calibrador o muestra (µL)	10

4. Mezclar e incubar 5 minutos.

5. Pipetear en la misma cubeta:

R2 (µL)	120
---------	-----

6. Mezclar y leer la absorbancia (A) a los 5 minutos de la adición del Reactivo R2.

CALCULOS

Concentración HbA_{1c} (%)

Representar la absorbancia (A) obtenida frente a las concentraciones de HbA_{1c} de cada Calibrador (del 1 al 4). El porcentaje de HbA_{1c} en la muestra se calcula por interpolación de su absorbancia (A) en la curva de calibración.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. Spinreact dispone de sueros control HbA_{1c} (Ref. 43106). Los Controles, una vez reconstituidos, precisan de un tratamiento hemolizante antes de su uso.

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

VALORES DE REFERENCIA¹⁾

Valores recomendados: inferior a 6% para no-diabéticos, inferior a 7% para control glicémico de persona con diabetes.

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia. En el uso de Hemoglobina A_{1c} para el control de pacientes diabéticos, los resultados se deben interpretar individualmente. Significa que el paciente se debe controlar frente a él mismo. Hay un intervalo de tiempo de 3-4 semanas antes que Hemoglobina A_{1c} refleje cambios en el nivel de glucosa en sangre.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 2% hasta el límite de linealidad de 18%.

Precisión:

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
Media (%)	5,95	12,15	5,97	12,21
SD	0,19	0,18	0,14	0,15
CV (%)	3,20	1,47	2,31	1,24

Sensibilidad analítica: 1% = 0,056 (A)

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

Los resultados obtenidos con 40 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r²): 0,995

Ecuación de la recta de regresión: y=0,989x - 0,047

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS Y LIMITACIONES

1. Bilirrubina hasta 50 mg/dL, ácido ascórbico hasta 50 mg/dL, triglicéridos hasta 2000 mg/dL, Hb carbamilada hasta 7,5 mmol/L y Hb acetilada hasta 5,0 mmol/L no interfieren en el ensayo.
2. Los resultados pueden ser inconsistentes en pacientes con las siguientes condiciones: adición de opiáceos, envenenamiento por plomo, alcoholismo, grandes ingestas de aspirina.^{6,7,8,9}
3. Se ha demostrado que valores elevados de HbF pueden conducir a una infravaloración de HbA_{1c}, y que la uremia no interfiere con la determinación de HbA_{1c} por inmunoensayo.¹⁰ También se ha demostrado que intermedios lábiles (base Schiff) no son detectados y no interfieren con la determinación de HbA_{1c} por inmunoensayo.⁵
4. Se ha determinado que las variantes de Hemoglobina HbA₂, HbC y HbS no interfieren con este método.
5. No se han evaluado otras variantes raras de hemoglobina (ej. HbE).

NOTAS

1. Para evitar la contaminación, se recomienda el uso de material desechable.
2. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
3. SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFIA

1. Trivelli, L.A., Ranney, H.M., and Lai, H.T., New Eng. J. Med. 284,353 (1971).
2. Gonen, B., and Rubenstein, A.H., Diabetologia 15, 1 (1978).
3. Gabbay, K.H., Hasty, K., Bireslow, J.L., Ellison, R.C., Bunn, H.F., and Gallop, P.M., J. Clin. Endocrinol. Metab. 44, 859 (1977).
4. Bates, H.M., Lab. Mang., Vol 18 (Jan. 1978).
5. Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders Company, p.794-795 (1999).
6. Ceriello, A., et al, Diabetologia 22, p. 379 (1982).
7. Little, R.R., et al, Clin. Chem. 32, pp. 358-360 (1986).
8. Fluckiger, R., et al, New Eng. J. Med. 304 pp. 823-827 (1981).
9. Nathan, D.M., et al, Clin. Chem. 29, pp. 466-469 (1983).
10. Engbaek, F., et al, Clin. Chem. 35, pp. 93-97 (1989).
11. American Diabetes Association: Clinical Practice Recommendations (Position Statement), Diabetes Care 24 (Suppl. 1): S33-S55, (2001).

PRESENTACIÓN

Cont.	Ref. 43099	Ref. 43100	Ref. 43101
R1:	1x15 mL	1 x 30 mL	1 x 90 mL
R2:	1x5 mL	1 x 10 mL	1 x 30 mL
R3:	1x80 mL	1 x 125 mL	4 x 125 mL



URIC ACID -LQ

Ácido Úrico-LQ

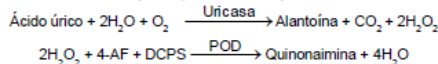
Uricasa -POD. Líquido

Determinación cuantitativa de ácido úrico IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

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



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

SIGNIFICADO CLÍNICO

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

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

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

REACTIVOS

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

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT): Mezclar volúmenes iguales de R1 Tampón y de R2 Enzimas.

Estabilidad del reactivo de trabajo: 1 semana a 2-8°C o 4 días a temperatura ambiente (15-25°C).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del blanco a 520 nm \geq 0,16.

MATERIAL ADICIONAL

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

MUESTRAS

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

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 520 nm (490-550)
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura: 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta^(Nota 3):

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón ^(Nota 1,2) (µL)	--	25	--
Muestra (µL)	--	--	25
- Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C ó 10 min. 15-25°C.
- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

CÁLCULOS

Suero o plasma

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

Orina 24 h

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

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

CONTROL DE CALIDAD

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

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

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

VALORES DE REFERENCIA¹

Suero o plasma:

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

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

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

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,01647 mg/dL hasta el límite de linealidad de 40 mg/dL.

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

Precisión:

	Intra serie (n= 20)		Inter serie (n= 20)	
Media (mg/L)	4,46	10,37	4,71	11,02
SD	0,02	0,05	0,06	0,15
CV (%)	0,46	0,44	1,20	1,37

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,0323 (A).

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

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r)²: 0,99734.

Ecuación de la recta de regresión: y=0,816x + 0,319.

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

INTERFERENCIAS

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

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

NOTAS

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

BIBLIOGRAFÍA

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

PRESENTACIÓN

Ref. 41000		R1: 1 x 50 mL, R2: 1 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL
Ref. 41001	Cont.	R1: 1 x 250 mL, R2: 1 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref. 41002		R1: 1 x 100 mL, R2: 1 x 100 mL, CAL: 1 x 2 mL
Ref. 41003		R1: 1 x 1000 mL, R2: 1 x 1000 mL, CAL: 1 x 5 mL



CREATININE -J

Creatinina

Jaffé. Colorimétrico - cinético

Determinación cuantitativa de creatinina IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

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

SIGNIFICADO CLÍNICO

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

REACTIVOS

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

PRECAUCIONES

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

PREPARACIÓN

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

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

CREATININE CAL

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

Indicadores de deterioro de los reactivos:

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

MATERIAL ADICIONAL

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

MUESTRAS

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

PROCEDIMIENTO

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

3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón ¹ (NoB1,2) (µL)	--	100	--
Muestra (µL)	--	--	100

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

CÁLCULOS

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

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

CONTROL DE CALIDAD

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

VALORES DE REFERENCIA¹

Suero o plasma:
 Hombres 0,7 - 1,4 mg/dL \boxtimes 61,8 - 123,7 µmol/L
 Mujeres 0,6 - 1,1 mg/dL \boxtimes 53,0 - 97,2 µmol/L
 Orina: 15-25 mg/Kg/24 h
 Hombres 10 - 20 mg/Kg/24 h \boxtimes 88 - 177 µmol/Kg/24 h
 Mujeres 8 - 18 mg/Kg/24 h \boxtimes 71 - 177 µmol/Kg/24 h

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

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

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

Precisión:

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

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

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

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,986
 Ecuación de la recta de regresión: $y = 0,975x + 0,047$

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

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

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

NOTAS

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

BIBLIOGRAFÍA

- Murray R.L. Creatinine. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1261-1266 and 418.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 1001111

Cont.

 2 x 150 mL
 Ref: 1001113

Cont.

 4 x 150 mL



UREA -37

Urea 37

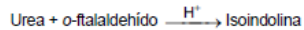
o-Ftalaldehído 37°C. Colorimétrico

Determinación cuantitativa de urea IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

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



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

SIGNIFICADO CLÍNICO

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

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

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

REACTIVOS

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

PRECAUCIONES

R2: H314-Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

Todos los reactivos están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

Indicadores de deterioro de los reactivos:

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

MATERIAL ADICIONAL

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

MUESTRAS¹

- Suero o plasma heparinizado¹: No usar sales de amonio o fluoruro como anticoagulantes.
- Orina¹: Diluir la muestra al 1/50 en agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 50 (factor de dilución). Evitar el crecimiento bacteriano, manteniendo el pH < 4. Estabilidad de la urea: 5 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO Y CÁLCULOS

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

A) Cinética

- Pipetear en tubos de ensayo ^(Nota 4):

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

- Mezclar e incubar 1 minuto y añadir:

R 2 (mL)	1,0	1,0	1,0
----------	-----	-----	-----

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

Cálculos

(A₂ - A₁) Muestra - (A₂ - A₁) Blanco x 50 (Conc. Patrón) = mg/dL de urea en la muestra (A₂ - A₁) Patrón - (A₂ - A₁) Blanco

B) Punto final

- Pipetear en una cubeta^(Nota 4):

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

- Mezclar y añadir:

R 2 (mL)	1,0	1,0	1,0
----------	-----	-----	-----

- Mezclar e incubar 15 minutos a 37°C y leer la absorbancia (A) frente al blanco.

Cálculos

(A) Muestra - (A) Blanco
(A) Patrón - (A) Blanco x 50 (Conc. Patrón) = mg/dL de urea en la muestra

mg/dL Urea x 0,466 = mg/dL de UREA/BUN (Blood Urea Nitrogen)¹.

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

CONTROL DE CALIDAD

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

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

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

VALORES DE REFERENCIA¹

Suero y plasma: de 15 a 45 mg/dL (2,5-7,5 mmol/L)

Orina: de 20 a 35 gr/24 h

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,71 mg/dL hasta el límite de linealidad de 200 mg/dL.

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

Precisión:

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

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,002568 A.

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

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r)²: 0,977

Ecuación de la recta de regresión: y=0,9751x + 0,6

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

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

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la urea²⁻³.

NOTAS

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

BIBLIOGRAFÍA

- Kaplan A. Urea. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1994; 1257-1280 and 437 and 418.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTACIÓN

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



TOTAL PROTEIN

Proteínas Totales

Biuret. Colorimétrico

Determinación cuantitativa de proteínas totales IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

En medio alcalino, las proteínas dan un intenso color violeta azulado en presencia de sales de cobre; contiene yoduro como antioxidante. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de proteína total en la muestra ensayada^{1,4}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Las proteínas son compuestos orgánicos macromoleculares, ampliamente distribuidos en el organismo. Actúan como elementos estructurales y de transporte. Se dividen en dos fracciones, albúmina y globulinas.

Su determinación es útil en la detección de:

- Hiperproteinemia producida por hemoconcentración, deshidratación o aumento en la concentración de proteínas específicas.
- Hipoproteinemia por hemodilución debida a un defecto en la síntesis proteica, pérdidas excesivas (hemorragias) o catabolismo proteico excesivo^{4,5}.

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

REACTIVOS

R Biuret	Potasio sodio tartrato	15 mmol/L
	Yoduro sódico	100 mmol/L
	Yoduro de potasio	5 mmol/L
	Sulfato de cobre (II)	5 mmol/L
	Hidróxido de sodio	1000 mmol/L
T PROTEIN CAL	Patrón primario de Albúmina Bovina	7 g/dL

PRECAUCIÓN

R: H314-Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H412-Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

Los reactivos están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 540 nm \geq 0,22.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ó analizador para lecturas a 540 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma heparinizado¹.

Estabilidad de la muestra: 1 mes en nevera a (2-8°C).

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:
 Longitud de onda: 540 (530 -550) nm
 Cubeta: 1 cm paso de luz
 Temperatura: 37°C / 15-25°C
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
3. Pipetear en una cubeta^(Nota 3):

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

4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C o 10 minutos a T° ambiente.
5. Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

CÁLCULOS

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 7 (\text{Conc. Patrón}) = \text{g/dL de proteínas totales}$$

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

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

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

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

VALORES DE REFERENCIA¹

Adultos: 6,6 – 8,3 g/dL

Recién nacidos: 5,2 – 9,1 g/dL

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,007 g/dL hasta el límite de linealidad de 14 g/dL.

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

Precisión:

Media (g/dL)	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
	6,53	4,89	6,77	5,08
SD	0,01	0,01	0,07	0,05
CV (%)	0,21	0,24	1,05	0,94

Sensibilidad analítica: 1 g/dL = 0,0825 A.

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

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r)²: 0,97002

Ecuación de la recta de regresión: y= 0,954x +0,511.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Hemoglobina y lipemia^{1,4}.

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

NOTAS

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

BIBLIOGRAFÍA

1. Koller A. Total serum protein. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1316-1324 and 418.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
4. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
5. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 1001290	Cont.	R:2 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL
Ref: 1001291		R:2 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001292		R:1 x 1000 mL,CAL: 1 x 5 mL



ALBUMIN

Albúmina

Verde bromocresol. Colorimétrico

Determinación cuantitativa de albúmina IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La albúmina se combina con el verde de bromocresol a pH ligeramente ácido, produciéndose un cambio de color del indicador, de amarillo verdoso a verde azulado proporcional a la concentración de albúmina presente en la muestra ensayada^{1,2,3,4}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

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

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

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

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

REACTIVOS

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

PREPARACIÓN

El reactivo y patrón están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

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

MATERIAL ADICIONAL

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

MUESTRAS

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

PROCEDIMIENTO

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

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

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

CÁLCULOS

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

en la muestra

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

CONTROL DE CALIDAD

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

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

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

VALORES DE REFERENCIA

3,5 a 5,0 g/dL¹.

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

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

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

Precisión:

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

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

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

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

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

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

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

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

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

NOTAS

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

BIBLIOGRAFÍA

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

PRESENTACIÓN

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



CHOLESTEROL -LQ

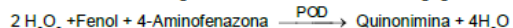
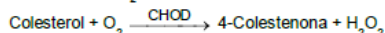
Colesterol
CHOD-POD. Líquido

Determinación cuantitativa de colesterol IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

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



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

SIGNIFICADO CLÍNICO

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

REACTIVOS

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

PREPARACIÓN

Todos los reactivos están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

Indicadores de deterioro de los reactivos:

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

MATERIAL ADICIONAL

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

MUESTRAS

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

PROCEDIMIENTO

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

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

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

CÁLCULOS

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

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

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

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

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar los instrumentos, los reactivos y la calibración.

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

VALORES DE REFERENCIA

Evaluación del riesgo^{5,8}:

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

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

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

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

Precisión:

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

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

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

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,9968.

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0.9797x + 2.2803$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

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

NOTAS

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

BIBLIOGRAFÍA

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

PRESENTACIÓN

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



HDLc -P

HDL Colesterol P

Reactivo precipitante

Reactivo precipitante de HDL colesterol IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y baja densidad (LDL) del suero o plasma, se precipitan con fosfotungstato en presencia de iones magnesio. Tras la centrifugación, el sobrenadante contiene lipoproteínas de alta densidad (HDL). La fracción de HDL colesterol se determina utilizando el reactivo enzimático de colesterol total^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

El colesterol transportado por las lipoproteínas de alta densidad (HDL) a menudo se denomina "colesterol bueno", ya que niveles elevados están relacionados con un menor riesgo cardiovascular. Un nivel bajo de colesterol HDL es considerado uno de los principales factores de riesgo cardiovascular^{1,6,7}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R	Acido fosfotúngstico	14 mmol/L
Reactivo precipitante	Cloruro magnésico	2 mmol/L
STD opcional ^(Nota 2)	Pat. Prim. Ac. HDL	50 mg/dL
Reactivo opcional	Colesterol CHOD-POD	

PRECAUCIONES

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

PREPARACION

El reactivo está listo para su uso.

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

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

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm (500-550).
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma¹.

No utilizar muestras hemolizadas. Separar el suero de los hematíes lo antes posible.

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

PROCEDIMIENTO

Precipitación ^(Nota 1)

1. Dosificar en tubos de centrifuga:

R (µL)	100
Muestra (mL)	1,0

2. Mezclar y dejar reposar 10 minutos a temperatura ambiente.
3. Centrifugar 20 min a 4000 r.p.m. ó 2 min a 12000 r.p.m.
4. Recoger el sobrenadante y procesar como muestra en la determinación de colesterol total.

CÁLCULOS

Seguir las instrucciones detalladas en el insert de colesterol total.

LDL-colesterol calculado (Friedewald)

LDLc = Colesterol total – HDLc - (TG/5)

CONTROL DE CALIDAD

Proceder según lo indicado en las instrucciones de trabajo del reactivo de Colesterol.

VALORES DE REFERENCIA³

HDL-colesterol:

	Hombres	Mujeres
Riesgo menor	> 55 mg/dL	> 65 mg/dL
Riesgo normal	35-55 mg/dL	45-65 mg/dL
Riesgo elevado	< 35 mg/dL	< 45 mg/dL

LDL-colesterol:

Valores sospechosos a partir de: 150 mg/dL

Valores elevados a partir de : 190 mg/dL

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

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 1,57 mg/dL hasta el límite de linealidad de 275 mg/dL.

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

Precisión:

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
Media (mg/dL)	33,9	75,8	34,8	75,4
SD	0,85	0,89	1,25	1,95
CV (%)	2,51	1,18	3,60	2,59

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

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

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r)²: 0,99.

Ecuación de la recta de regresión: y=0,9944x – 1,2346.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No se han observado interferencias con triglicéridos hasta 4 g/L¹.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del Colesterol HDL^{4,5}.

NOTAS

1. El procedimiento de precipitación también se puede realizar usando la mitad del volumen del reactivo y muestra.
2. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
3. SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFIA

1. Naito H K. High-density lipoprotein (HDL) cholesterol. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1207-1213 and 437.
2. Grove T H. Effect of reagent pH on Determination of HDL Cholesterol by precipitation with Sodium Phosphotungstate-magnesium Clin Chem 1979; 25:560.
3. US National Cholesterol Education Program of the National Institutes of Health.
4. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
5. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
6. Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC 1999.
7. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

PRESENTACION

Ref: 1001095

Cont.

R: 4 x 5 mL



LDLc -D

LDL Colesterol D

Enzimático colorimétrico. Líquido

Determinación cuantitativa de colesterol LDL IVD

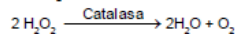
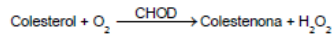
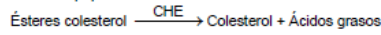
Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

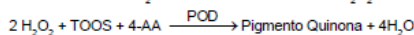
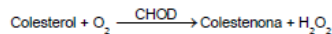
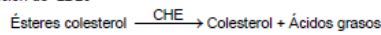
Determinación directa del LDLc (colesterol de lipoproteínas de baja densidad) sin necesidad de pre-tratamiento o centrifugado de la muestra^{1,4}.

La determinación se realiza en dos pasos:

- 1º Eliminación de lipoproteínas no-LDL



- 2º Medición de LDLc



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

SIGNIFICADO CLÍNICO

Las partículas de LDLc son lipoproteínas que transportan el colesterol a las células. Niveles elevados de colesterol LDL son un factor de riesgo de desarrollo de enfermedades cardiovasculares, a menudo se le denomina "colesterol malo". Niveles altos de colesterol LDL están relacionados con obesidad, diabetes y nefrosis^{1,2,3}.

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

REACTIVOS

R 1	Tampón PIPES pH 7,0	50 mmol/L
	Colesterol esterasa (CHE)	≥600 U/L
	Colesterol oxidasa (CHOD)	≥500 U/L
	Catalasa	≥600 KU/L
R 2	TOOS	2 mmol/L
	Tampón PIPES pH 7,0	50 mmol/L
	4-Aminoantipirina (4-AA)	4 mmol/L
	Peroxidasa (POD)	≥4 KU/L
HDLc/LDLc CAL	Calibrador. Suero humano liofilizado	

PRECAUCIONES

HDLc/LDLc CAL: Todos los componentes de origen humano han resultado ser negativos para el antígeno HBs, HCV y para el anti-HIV (1/2). Sin embargo, deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos.

PREPARACION

R 1 y R 2: Listos para su uso.

HDLc/LDLc CAL: Reconstituir el contenido de un vial con 1 mL de agua destilada. Tapar el vial y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

R 1 y R 2: Una vez abiertos son estables 4 semanas a 2-8°C.

HDLc/LDLc CAL: Una vez reconstituido es estable 30 horas a 20-25°C, 2 semanas a 2-8°C o 3 meses a -20°C. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 600 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero, plasma heparinizado o plasma EDTA.

Si alguna muestra presenta precipitados, centrifugarla antes de usarla⁵.

El suero es estable 6 días a 2-8°C. No congelar las muestras.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 600 (590-700) nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura: 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en tubos de ensayo:

	Blanco	Patrón	Muestra
R 1 (µL)	300	300	300
Patrón (µL)	-	4	-
Muestra (µL)	-	-	4

4. Mezclar e incubar 5 min a 37°C

5. Añadir:

R 2 (µL)	100	100	100
----------	-----	-----	-----

6. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C y leer la absorbancia (A), frente al Blanco de reactivo.

CÁLCULOS

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

Factor de conversión: mg/dL x 0,0259 = mmol/L

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

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

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar los instrumentos, los reactivos y la calibración.

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

VALORES DE REFERENCIA^{6,7,8}

Óptimo	< 100 mg/dL
Bueno	100-129 mg/dL
Moderadamente alto	130-160 mg/dL
Alto	> 160 mg/dL

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el *límite de detección* 10 mg/dL hasta el *límite de linealidad* 976 mg/dL. Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con NaCl 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Media (mg/dL)	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
	31,4	67,8	32,1	68,1
SD	0,42	1,11	0,92	2,02
CV (%)	1,35	1,64	2,87	2,97

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,001784 (A).

Exactitud^{9,11}: Los reactivos de SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r²): 0,99123.

Ecuación de la recta de regresión: y = 0,914x + 1,58283

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

El ensayo no se ve afectado por muestras ictericas. No interfieren concentraciones de ácido ascórbico hasta 50 mg/dL, hemoglobina hasta 0,5 g/dL, no se detectaron interferencias hasta 30mg/dL de bilirrubina, factores reumatoides hasta 1000 UI/mL y muestras lipémicas hasta 1200 mg/dL de triglicéridos.

Muestras lipémicas con concentración de triglicéridos mayor a 1200 mg/dL, se deben diluir 1/10 con NaCl 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.

NOTAS

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

BIBLIOGRAFÍA

- Naito H. K., et al, Clin Chem, 41: 132-133, 1995.
- Seidel d., et al, Internist, 28: 606-314, 1987.
- Weiland H. and Seidel D., J Lip Res, 24: 904-909, 1983.
- Friedewald w.F., et al, Clin Chem, 18:499-502, 1972.
- Clinical Laboratory Diagnostics: use and Assessment of Clinical Laboratory Results: First Edition T-H Books Germany; p 172.
- Rifai N., et al, Clin Chem, 38 : 150-160, 1992.
- National Cholesterol Education Program. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA, Vol.285, No. 19; p.2846-2897 Publication 2001.
- Armstrong V., et al, Arztl Lab, 31: 325-330, 1985.
- Bachorik P.S. and Ross J.W., Clin Chem, 41: 1414-1420, 1995.
- Passing H. and Bablok W., J Clin Chem Clin Biochem, 21: 709-720, 1983.
- Bablok W., et al, J Clin Chem Clin Biochem, 26: 783-790, 1988.

PRESENTACIÓN

Ref. 41023	Cont.	R 1: 1 x 30 mL
		R 2: 1 x 10 mL
		CAL: 1 x 1 mL
Ref. 41024		R 1: 1 x 60 mL
		R 2: 1 x 20 mL
		CAL: 1 x 1 mL



TRIGLYCERIDES -LQ

Triglicéridos-LQ

GPO-POD. Líquido

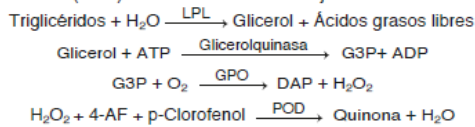
Determinación cuantitativa de triglicéridos IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Los triglicéridos incubados con lipoproteinlipasa (LPL) liberan glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por glicerolfosfato deshidrogenasa (GPO) y ATP en presencia de glicerol quinasa (GK) para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina-5-difosfato (ADP). El G3P es entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrogeno (H₂O₂) por GPO.

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



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

SIGNIFICADO CLÍNICO

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

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

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

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

REACTIVOS

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

PREPARACIÓN

El reactivo y el patrón están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Deterioro de los reactivos

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

MATERIAL ADICIONAL

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

MUESTRAS

Suero y plasma¹.

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

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 505 (490-550) nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura: 37°C / 15-25°C

- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta (Nota 4).

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón (Nota 1,5) (µL)	--	10	--
Muestra (µL)	--	--	10

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

CÁLCULOS

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

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

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

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

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

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

VALORES DE REFERENCIA

Hombres: 40 – 160 mg/dL

Mujeres: 35 – 135 mg/dL

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

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

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

Precisión:

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

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

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

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r²): 0,99810.

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

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

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

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

NOTAS

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

BIBLIOGRAFÍA

- Bucolo G et al. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. Clin Chem 1973; 19 (5): 478-482.
- Fossati P et al. Clin. Chem 1982; 28(10): 2077-2080.
- Kaplan A et al. Tryglycerides. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis, Toronto, Princeton 1984; 437 and Lipide 1194-1206.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTACIÓN

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

Cont.



CHLORIDE

Cloruro

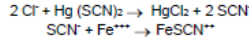
Tiocianato-Hg. Colorimétrico

Determinación cuantitativa de iones cloruro IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Los iones cloruro de la muestra reaccionan con tiocianato de mercurio desplazando el ión tiocianato. El tiocianato libre en presencia de iones férricos forma un complejo coloreado medible colorimétricamente:



La intensidad del color es proporcional a la concentración de iones cloruro presente en la muestra ensayada^{1,2,3,4}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

El control de la concentración de iones cloruro tiene gran interés clínico dada su importancia en el balance ácido-base y la regulación osmótica del fluido extracelular. Valores altos se relacionan con pérdidas excesivas de agua o alteraciones del flujo renal y fibrosis quística. Valores bajos nos indican acidosis metabólica, trastornos gastrointestinales o alteración de los mecanismos renales^{2,7,8}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R ^(Nota 4)	Tiocianato de mercurio	4 mmol/L
Tiocianato de Mercurio	Nitrato de hierro	40 mmol/L
	Nitrato de mercurio	2 mmol/L
	Ácido nítrico	45 mmol/L
CLORURO CAL	Patrón primario acuoso de Cloruros	125 mmol/L

PRECAUCIONES

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

PREPARACIÓN

Reactivo y Patrón están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 480 nm ≥ 0,15.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador con cubeta para lecturas a 480 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio^(Nota 2,3).

MUESTRAS

- Suero, plasma, Libre de hemólisis. Separado lo antes posible de los hematies. No usar oxalato o EDTA como anticoagulantes ya que interfiere en los resultados.
- Orina¹: Efectuar la recogida de orina de 24 horas en recipientes libres de cloruros. Diluir la orina 1/2 en agua destilada para su análisis. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 2 (factor de dilución).

Estabilidad de la muestra: Los iones de cloruro son estables 1 semana a temperatura ambiente (15-25°C) o 15 días en nevera (2-8°C) o 1 mes congelado (-20°C).

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 480 (440-500) nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura: 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta^(Nota 5):

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón ^(Nota 1,5) (μL)	-	10	-
Muestra (μL)	-	-	10

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

CÁLCULOS

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 125 \text{ (Conc. Patrón)} = \text{mmol/L de iones cloruro}$$

$$\text{Orina 24 h: } \frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 125 \times \text{vol. (dL) orina/24 h} = \text{mmol/24 h iones cloruro}$$

cloruro

Factor de conversión: mmol/L = mEq/L.

CONTROL DE CALIDAD

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

VALORES DE REFERENCIA¹

Suero o plasma:	95 - 115 mmol/L
Orina:	110 - 250 mmol/24h

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,454 mmol/L hasta el límite de linealidad de 190 mmol/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con agua destilada y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Media (mmol/L)	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
	84,2	114	82,5	111
SD	0,81	0,62	1,07	1,87
CV (%)	0,96	0,55	1,30	1,68

Sensibilidad analítica: 1 mmol/L = 0,00471 A.

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

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r)²: 0,96731.

Ecuación de la recta de regresión: y=0,990x + 0,100.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Hemólisis. Los anticoagulantes a excepción de la heparina¹.

Bilirrubina hasta 120 mg/L, albúmina bovina hasta 150 g/L y triglicéridos hasta 6 g/L no alteran significativamente los datos del ensayo².

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren con la determinación del cloruro^{5,6}.

NOTAS

- CHLORIDE CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- Se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso para evitar contaminaciones. En caso de utilizar material de vidrio deberá lavarse con una solución de H₂SO₄ - K₂Cr₂O₇, enjuagar varias veces con agua destilada y secar antes de su uso.
- La mayoría de detergentes destinados a uso del laboratorio contienen agentes quelantes. Trazas de los mismos, como consecuencia de un mal aclarado del material, invalida la determinación.
- Evitar el contacto con partes metálicas.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Miller W.G. Chloride. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1059-1062 and 417.
- Ibbott F.A. et al. New York Academic Press 1965: 101-111.
- Schoenfeld R.G. et al. Clin Chem 1964 (10): 533-539.
- Levinson S.S. et al. In Faulkner WR et al editors. (9) AACC 1982: 143-148.
- Young D.S. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young D.S. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N.W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 1001360 Cont. R: 2 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL



CALCIUM-oC

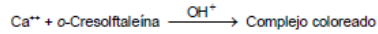
Calcio o-Cresolfaleína. Colorimétrico

Determinación cuantitativa de calcio IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La medición del calcio se basa en la formación de un complejo coloreado entre el calcio de la muestra y la o-cresolfaleína, en medio alcalino:



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

SIGNIFICADO CLÍNICO

El calcio es el mineral más abundante e importante del cuerpo humano, el 99 % se halla en los huesos.

Una disminución de los niveles de albúmina causa una disminución del calcio en suero. Niveles bajos de calcio pueden atribuirse a hipoparatiroidismo, pseudohipoparatiroidismo, déficit de vitamina D, malnutrición o mala absorción. La mayoría de las causas de hipercalcemia son debidas a enfermedades oncológicas, intoxicación por vitamina D, aumento de la retención renal, osteoporosis, sarcoidosis, tirotoxicosis e hiperparatiroidismo^{1,4,7}.

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

REACTIVOS

R 1 Tampón	Etanolamina	500 mmol/L
R 2 Cromógeno	o-Cresolfaleína 8-Hidroxiquinoleína	0,62 mmol/L 69 mmol/L
CALCIUM CAL	Patrón primario acuoso de Calcio	10 mg/dL

PRECAUCIONES

R2:H290-Puede ser corrosivo para los metales. H314-Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

CAL: H290-Puede ser corrosivo para los metales.

Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

Los reactivos y el patrón están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 570 nm \geq 0,2.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador con cubeta para lecturas a 570 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio^(Nota 2,3).

MUESTRAS

- Suero o plasma¹: Separado lo antes posible de los hematíes. No usar oxalato o EDTA como anticoagulantes ya que interfieren en la determinación del calcio.
- Orina¹: Efectuar la recogida de orina de 24 horas en recipientes libres de calcio. Antes de la recogida adicionar al contenedor 10 mL de ácido nítrico al 50% (v/v). Anotar el volumen.

Diluir la orina 1/2 en agua destilada para su análisis. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 2 (factor de dilución).

Estabilidad de la muestra: El calcio es estable 10 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 570 nm (550-590)
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura: 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
R 1 (mL)	2,0	2,0	2,0
R 2 (gotas)	1	1	1
Patrón ^(Nota 1,4,5)	--	20	--
Muestra (µL)	--	--	20

- Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C / 15-25°C.
- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 40 minutos.

CÁLCULOS

Suero o plasma

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

Orina 24 h

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 10 \times \text{vol. (dL) orina/24h} = \text{mg/24 h de calcio en la muestra}$$

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

CONTROL DE CALIDAD

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

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

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

VALORES DE REFERENCIA¹

Suero o plasma:			
Adultos	8,5-10,5 mg /dL	\cong	2,1-2,6 mmol/L
Niños	10-12 mg/dL	\cong	2,5-3 mmol/L
Recién nacidos	8-13 mg/dL	\cong	2-3,25 mmol/L
Orina:			
Adultos	50-300 mg/24 h	\cong	1,25-7,5 mmol/24 h
Niños	80-160 mg/24 h	\cong	2-4 mmol/24 h

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,17 mg/dL hasta el límite de linealidad de 15 mg/dL.

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

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (mg/dL)	8,62	14,9	8,02	14,9
SD	0,06	0,12	0,14	0,28
CV (%)	0,68	0,81	1,76	1,89

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,043 A.

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

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,99.

Ecuación de la recta de regresión: y= 0,97x + 0,26.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Triglicéridos \leq 1,25 g/L, no interfieren^{1,2,3}. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del calcio^{4,5}.

NOTAS

- CALCIUM CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- Se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso. Si se usa material de vidrio deberá lavarse con ácido nítrico diluido con agua (1/2), enjuagar varias veces con agua destilada y secar antes de su uso.
- La mayoría de detergentes destinados a uso del laboratorio contienen agentes quelantes. Trazas de los mismos, como consecuencia de un mal aclarado del material, invalida la determinación.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Farell E C. Calcium. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1051-1255 and 418.
- Kessler G. et al. Clin Chem 1964; 10 (8); 686-706.
- Connerty H. V. et al. Am J Clin Path 1996; 45 (3); 200-296.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACCC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACCC 1995.

PRESENTACIÓN



CE MAGNESIUM

Magnesio Xilidil

Azul de Xilidil. Colorimétrico

Determinación cuantitativa de magnesio

IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

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

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

SIGNIFICADO CLÍNICO

El magnesio, es el segundo catión intracelular más abundante en el organismo humano después del potasio, siendo esencial en gran número de procesos enzimáticos y metabólicos.

Es un cofactor en todas las reacciones enzimáticas que involucran al ATP y forma parte de la membrana que mantiene la excitabilidad eléctrica de las células musculares y nerviosas.

Principales causas de déficit de magnesio son mala absorción intestinal, administración de diuréticos o aminoglucósidos, hiperparatiroidismo o acidosis diabética.

Niveles altos de magnesio se hallan en la uremia, fallo renal, glomerulonefritis, enfermedad de Addison o terapia intensiva con antiácidos^{1,4,5}.

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

REACTIVOS

R	Azul de Xilidil	0,1 mmol/L
	Ácido Tioglicólico	0,7 mmol/L
	DMSO	3000 mmol/L
MAGNESIUM CAL	Patrón primario acuoso de Magnesio	2 mg/dL

PRECAUCIONES

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

PREPARACIÓN

El reactivo y el patrón están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas, cambio de color y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 546 nm \geq 1,8.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ó analizador para lecturas a 546 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio^(Nota 2).

MUESTRAS

- Suero o plasma heparinizado¹: Libre de hemólisis. Separado lo antes posible de los hematíes. No usar oxalato o EDTA como anticoagulante. Estabilidad de la muestra: 7 días a 2-8°C.
- Orina¹: Ajustar a pH 1 con ClH. Si la muestra es turbia, calentarla a 60°C 10 min. para disolver los precipitados. Diluir la muestra 1/10 con agua destilada y mezclar. Multiplicar el resultado por 10 (factor de dilución). Estabilidad de la muestra: 3 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 546 nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura: 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta^(Nota 4):

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

- Leer la absorbancia (A) del calibrador y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

CÁLCULOS

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

Factores de conversión:

$$\text{mg/dL} \times 0,412 = \text{mmol/L}$$

$$0,5 \text{ mmol/L} = 1,0 \text{ mEq/L} = 1,22 \text{ mg/dL} = 12,2 \text{ mg/L}^1.$$

CONTROL DE CALIDAD

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

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

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

VALORES DE REFERENCIA¹

Suero o plasma:

$$1,6 - 2,5 \text{ mg/dL} \cong 0,66 - 1,03 \text{ mmol/L}$$

Orina:

$$24-244 \text{ mg/24 horas} \cong 2-21 \text{ mEq/L/24 horas}$$

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el *límite de detección* de 0,0052 mg/dL hasta el *límite de linealidad* de 6 mg/dL.

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

Precisión:

Media (mg/dL)	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
	1,99	3,55	1,98	3,41
SD	0,03	0,04	0,09	0,15
CV (%)	1,68	1,14	4,55	4,42

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,5536 (A).

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

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r)²: 0,92276

Ecuación de la recta de regresión: y=1,027x + 0,102

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Hemólisis. Los anticoagulantes a excepción de la heparina¹.

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

NOTAS

- MAGNESIUM CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- Se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso para evitar contaminaciones de magnesio. En caso de utilizar material de vidrio deberá lavarse con una solución de H₂SO₄ - K₂Cr₂O₇, enjuagar varias veces con agua destilada y secar antes de su uso.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. Se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Farrell E C. Magnesium. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1065-1069.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 1001285 Cont. R: 2 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL

Ref: 1001286 Cont. R: 2 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL



CE SODIUM-LQ

SODIO-LQ

O-Nitrofenil-β-D-Glucósido

Determinación cuantitativa de Sodio

IVD

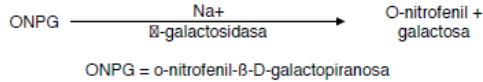
Conservar a 2-8°C

USO PREVISTO

Para determinación cuantitativa *in vitro* de Sodio en suero.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El sodio se determina enzimáticamente a través de la actividad de la β-galactosidasa dependiente de sodio con el ONPG como sustrato. La absorbancia a 405 nm del producto O-nitrofenil es proporcional a la concentración de sodio.



SIGNIFICADO CLÍNICO

En individuos sanos, la concentración de sodio en el fluido extracelular está regulada entre 136-146 mmol/L (313-336 mg/dL¹⁻²). Las pequeñas desviaciones respecto a los niveles normales pueden tener repercusiones importantes para la salud. El sodio se utiliza para el diagnóstico y el tratamiento de pacientes con desórdenes metabólicos y cardiovasculares y la Asociación Americana de Química Clínica (AACC) defiende que la ausencia de control puede tener graves consecuencias para la salud. Precisamente por este motivo resulta tan importante controlar la concentración de sodio en suero, tanto en los controles rutinarios como en los quirófanos.

REACTIVOS

R 1	Tampón GOOD'S, pH 8,5	
	Criptando	> 0,4 mmol/L
	β-D-galactosidasa Proclin 300	< 8 U/mL 0,02%
R2	Tampón GOOD'S, pH 6,5	
	O-nitrofenil β-D-glucósido	> 0,5 mmol/L
	Proclin 300	0,02%
CAL L & H	Patrón primario acuoso de sodio	

PREPARACIÓN

Todos los reactivos están listos para su uso.

CALIBRACIÓN

Se debe calibrar utilizando los calibradores L y H incluidos. La concentración de sodio en la muestra se determina a partir de la curva de calibración utilizando los calibradores de sodio L y H incluidos.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

MATERIAL ADICIONAL

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

MUESTRAS (Nota 3)

Este ensayo está formulado para su uso con suero no hemolizado. No se requiere manipulación especial o pretratamiento. Se recomienda utilizar suero como muestra para la realización de este ensayo.

PROCEDIMIENTO

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

3. Pipetear en la cubeta (Nota 2):

	Blanco	Patrón L y H	Muestra
R1 (µL)	600	600	600
Agua destilada	24	--	--
Patrón (µL)	--	24	--
Muestra (µL)	--	--	24

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

5. Añadir:

	Blanco	Patrón L y H	Muestra
R2 (µL)	300	300	300

6. Mezclar y leer la absorbancia después de 120 s (A₁) y 240 s (A₂).

7. Calcular: ΔA = A₂ - A₁.

CÁLCULOS

(A₂ Δ A₁) Muestra Δ (A₂ Δ A₁) Blanco

(A₂ Δ A₁) Patrón Δ (A₂ Δ A₁) Blanco

Interpolar el ΔA obtenido en la curva de calibración.

CONTROL DE CALIDAD

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

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

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

VALORES DE REFERENCIA

136 - 146 mmol/L (313 - 336 mg/dL)

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el *límite de detección* de 80 mmol/L hasta el *límite de linealidad* de 180 mmol/L.

Precisión:

	Intra-serie (n=20)		Inter-serie (n=20)	
Media (mmol/L)	128,9	155,8	128,9	155,8
SD (mmol/L)	1,57	1,72	2,01	2,56
CV (%)	1,20	1,10	1,56	1,65

Sensibilidad: 1 mmol/L = 0,003512355 (A)

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

Los resultados obtenidos con 53 muestras entre 86,2 y 174,7 fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r)²: 0,9801

Ecuación de la recta de regresión: y = 1,0516x - 2,2343

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Las siguientes sustancias normalmente presentes en el suero generaron una desviación inferior al 10% con las siguientes concentraciones: 1,5 mmol/L de NH₄Cl, 2,0 mmol/L de KPi, 7,5 mmol/L de CaCl₂, 10 mM de KCl, 0,5 mmol/L de CuCl₂, 0,5 mmol/L de ZnCl₂, 0,5 mmol/L de FeCl₃, 5 mmol/L de glucosa, 10 mmol/L de ascorbato, 40 mg/dL de bilirrubina, 40 mg/dL de bilirrubina conjugada, 500 mg/dL de hemoglobina y 1.000 mg/dL de triglicéridos.

NOTAS

- A fin de evitar contaminaciones se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- Cuando se requieren juntos sodio y potasio, el sodio se analiza justo antes del potasio.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Berry, M. N. et al., (1988) Clin. Chem. 34,2295
- Tietz, N. W. (1983) Clinical guide to Laboratory Tests, p. 384 W.B. Saunders Co., Philadelphia



POTASSIUM-LQ

POTASIO-LQ

Piruvato Quinasa

Determinación cuantitativa de Potasio IVD

Conservar a 2-8°C

USO PREVISTO

Para determinación cuantitativa *in vitro* de Potasio en suero humano.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La determinación de potasio se lleva a cabo espectrofotométricamente con un sistema de ensayo cinético acoplado basado en una piruvato quinasa dependiente de potasio^{2,3}. El piruvato generado se convierte en lactato que convierte NADH análogo en NAD análogo. La correspondiente disminución de la densidad óptica a 380 nm es proporcional a la concentración de potasio en suero.

SIGNIFICADO CLÍNICO

En individuos sanos, el nivel de potasio en el fluido extracelular está regulado en un rango de 3,5-5,1 mmol/L¹. Las pequeñas desviaciones respecto a los niveles normales pueden tener repercusiones importantes para la salud. Precisamente por este motivo resulta tan importante controlar la concentración de potasio en suero tanto en los controles rutinarios como en los quirófanos.

REACTIVOS

R 1	LDH	< 50 KU/L
	Sustrato de NADH análogo	< 10 mmol/L
R2	Piruvato Quinasa	< 50 KU/L
	Estabilizadores de azida	0,05 %
CAL L & H Patrón primario acuoso de Potasio		

PREPARACIÓN

Todos los reactivos están listos para su uso.

CALIBRACIÓN

Este ensayo debería calibrarse usando los calibradores L y H suministrados. La concentración de potasio en la muestra se determina a partir de la curva de calibración generada con los calibradores L y H de potasio incluidos.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 380-405 nm.
- Baño termostático a 37°C (±0,1°C)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio (Nota 1).

MUESTRAS

Este ensayo se ha formulado para su uso con suero no hemolizado. No se precisa manipulación ni pretratamiento especial.

Las muestras de suero deben obtenerse de forma que el análisis se realice lo antes posible y durante los 5 días siguientes a la obtención de la muestra.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda:380-405 nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura constante:37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en la cubeta (Nota 1):

	Blanco	Patrón L y H	Muestra
R1 (µL)	800	800	800
Agua destilada	20	--	--
Patrón (µL)	--	20	--
Muestra (µL)	--	--	20

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

- Añadir:

	Blanco	Patrón L y H	Muestra
R2 (µL)	200	200	200

- Mezclar cuidadosamente y leer la absorbancia después de 60 s (A₁) y 240 s (A₂).

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

CÁLCULOS

$(A_2 \Delta A_1) \text{ Muestra} \Delta (A_2 \Delta A_1) \text{ Blanco}$

$(A_2 \Delta A_1) \text{ Patrón} \Delta (A_2 \Delta A_1) \text{ Blanco}$

Interpolar el ΔA obtenido en la curva de calibración.

CONTROL DE CALIDAD

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

VALORES DE REFERENCIA

3,5 – 5,1 mmol/L (13,7 – 19,9 mg/dL)

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el *límite de detección* de 2,0 mmol/L hasta el *límite de linealidad* de 8,0 mmol/L.

Precisión:

	Intra-serie (n=80)		Inter-serie (n=80)	
Media (mmol/L)	4,62	6,96	4,62	6,96
SD	0,052	0,084	0,081	0,122
CV (%)	1,12	1,20	1,77	1,77

Sensibilidad: 1 mmol/L = 0,10129667(A)

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

Los resultados obtenidos con 56 muestras entre 2,5 y 7,8 fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r)²: 0,9805.

Ecuación de la recta de regresión: $y = 1,0703x - 0,3042$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

El ensayo no genera interferencias con las sustancias que se indican a continuación en las concentraciones indicadas: 150 mmol/L de Na⁺, 0,5 mMol/L de NH₄⁺, 7,5 mmol/L de Ca²⁺, 2,0 mmol/L de P_i, 10,0 mmol/L de ácido ascórbico, 0,5 mmol/L de Zn²⁺, 0,5 mmol/L de Fe³⁺, 0,5 mmol/L de Cu²⁺, 1.000 mg/dL de triglicéridos, 500 mg/dL de hemoglobina, 20 mg/dL de bilirrubina conjugada.

NOTAS

- A fin de evitar contaminaciones se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFÍA

- Wu, A.H.B., ed. Tietz clinical guide to laboratory tests, 4th edition, p. 880. W.B. Saunders Company, St. Louis (2006).
- Bergmeyer, H.U., Gawehn, K., and Grassl, M. (1974) in *Methods of Enzymatic Analysis*. Second Edition, Volume 1, 509-510, Academic Press, Inc., New York.
- M.N. Berry, R. D. Mazzachi, M. Pejakovic, and M. J. Peake *Enzymatic Determination of Potassium in Serum. CLIN. CHEM.* 35/5, 817-820 (1989).

PRESENTACIÓN

Ref: 1001397

Cont.

R1: 1 x 60 mL,

R2: 1 x 15 mL, CAL: 2 x 3 mL

Bilirrubina Total y Directa

Jendrassik – Grof. Colorimétrico

Determinación cuantitativa de bilirrubina IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La bilirrubina se convierte en azobilirrubina mediante el ácido sulfanílico diazotado midiéndose fotométricamente. De las dos fracciones presentes en suero, bilirrubin-glucuronido y bilirrubina libre ligada a la albúmina, sólo la primera reacciona en medio acuoso (bilirrubina directa) precisando la segunda la solubilización con cafeína para que reaccione (bilirrubina indirecta). En la determinación de la bilirrubina indirecta se determina también la directa, correspondiendo el resultado a la bilirrubina total. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de bilirrubina presente en la muestra ensayada^{1,2,3}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La bilirrubina se origina por la degradación de la hemoglobina. Es transportada del bazo al hígado y se excreta en la bilis. La hiperbilirrubinemia es el resultado de un incremento de la bilirrubina en plasma. Causas más probables de la hiperbilirrubinemia: Bilirrubina Total: Aumento de la hemólisis, alteraciones genéticas, anemia neonatal, alteraciones entropoyéticas, presencia de drogas. Bilirrubina Directa: Colestasis hepática, alteraciones genéticas y alteraciones hepáticas^{4,6,7}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1	Ácido sulfanílico Ácido clorhídrico	30 mmol/L 400 mmol/L
R 2	Sodio nitrato	50 mmol/L
R 3	Cafeína	100 mmol/L
Opcional	BILIRUBIN CAL	Ref:1002250

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

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

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador con cubeta para lecturas a 540 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma libre de hemólisis¹. Proteger de la luz.

Estabilidad de la muestra: 4 días a 2-8°C o 2 meses a -20°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 540 nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura: 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

	B. Total	B. Directa	Blanco
R 1 (µL)	200	200	200
R 2 (gotas)	1	1	—
CiNa 9 g/L (mL)	—	2,0	2,0
R 3 (mL)	2,0	—	—
Muestra / Calibrador (µL) ^(Nota 1)	200	200	200

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

CÁLCULOS

– Con Calibrador:

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

– Con Factor:

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

$$^*\text{Factor} = \frac{\text{Concentración del Calibrador}}{(A) Calibrador - (A) Blanco Calibrador}; \text{Factor teórico} = 17,5$$

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

CONTROL DE CALIDAD

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

VALORES DE REFERENCIA¹

Bilirrubina Total Hasta 1,1 mg/dL \cong 18,81 µmol/L
Bilirrubina Directa Hasta 0,25 mg/dL \cong 4,275 µmol/L

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,1 mg/dL hasta el límite de linealidad de 20 mg/dL.

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

Precisión:

Bilirrubina D	Intraserie (n= 20)	Interserie (n= 20)
Media (mg/dL)	0,78 2,28	0,80 2,18
SD	0,01 0,01	0,01 0,03
CV (%)	1,28 0,65	1,63 1,53

Sensibilidad analítica: (T) 1 mg/dL = 0,079 A. (D) 1 mg/dL = 0,087 A.

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

BILIRRUBINA DIRECTA

Coefficiente de correlación (r): 0,99.

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0,9923x + 0,0048$.

BILIRRUBINA TOTAL

Coefficiente de correlación (r): 0,99.

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0,9832x + 0,0224$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

La presencia de hemólisis disminuye el valor de bilirrubina^{1,3}.

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

NOTAS

- Para la determinación de bilirrubina en neonatos, pipetear 50 µL de muestra. Multiplicar el resultado obtenido por 4.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Kaplan A et al. *Bilirubin*. Clin Chem The C. V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1238-1241, 436 and 650.
- Malloy H T et al. *The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter*. J Biol Chem 1937; 112 (2): 481-491.
- Jendrassik L et al. *Biochemische Zeitschrift Band 1938; 297:80-89*.
- Young DS. *Effects of drugs on Clinical Lab. Tests*, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. *Effects of disease on Clinical Lab. Tests*, 4th ed. AACCC 2001.
- Burtis A et al. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd ed. AACCC 1999.
- Tietz N W et al. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd ed. AACCC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 1001041

Cont.	R 1: 1 x 60 mL
	R 2: 1 x 10 mL
	R 3: 1 x 150 mL



CE ALP

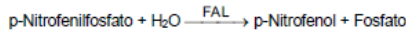
Fosfatasa alcalina
p-Nitrofenilfosfato. Cinético. DGKC

Determinación cuantitativa de fosfatasa alcalina (FAL) IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La fosfatasa alcalina (FAL) cataliza la hidrólisis del p-nitrofenilfosfato (pNPP) a pH 10,4 liberando p-nitrofenol y fosfato, según la siguiente reacción:



La velocidad de formación del p-Nitrofenol, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de fosfatasa alcalina en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Las fosfatasas alcalinas son enzimas que se encuentran presentes en casi todos los tejidos del organismo, siendo particularmente alta en huesos, hígado, placenta, intestinos y riñón.

Tanto el aumento como la disminución de los niveles en plasma, tienen significado clínico.

Causas más probables de aumento del nivel de FAL: Enfermedad ósea de Paget, obstrucciones hepáticas, hepatitis, hepatotoxicidad por medicamentos y osteomalacia.

Causas más probables de disminución del nivel de FAL:

Cretenismo y déficit de vitamina C^{1,5,6}.

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

REACTIVOS

R 1	Dietanolamina (DEA) pH 10,4 Tampón	1 mmol/L 0,5 mmol/L
R 2	Substrato	p-Nitrofenilfosfato (pNPP) 10 mmol/L

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT):

Ref: 1001130

Disolver (→) un comprimido de R 2 Substrato en un vial de R 1 Tampón.

Ref: 1001131

Disolver (→) un comprimido de R 2 Substrato en 15 mL de R 1 Tampón.

Ref: 1001132

Disolver (→) el contenido de un vial de R 2 Substrato en 50 mL de R 1.

Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

Estabilidad: 21 días a 2-8°C o 5 días a temperatura ambiente (15-25°C).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

No usar las tabletas si aparecen fragmentadas.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias del Blanco a 405 nm ≥ 1,30.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 405 nm.
- Baño termostatable a 25°C, 30°C ó 37°C (± 0,1°C)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma heparinizado¹.

Suero libre de hemólisis, separado de los hematíes lo antes posible.

Estabilidad: 3 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 405 nm

Cubeta: 1 cm paso de luz

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

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

3. Pipetear en una cubeta:

RT (mL)	1,2
Muestra (µL)	20

4. Mezclar, incubar 1 minuto.

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

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

CÁLCULOS

ΔA/min x 3300 = U/L de FAL

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

Factores de conversión de temperaturas

Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

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

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

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

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

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

VALORES DE REFERENCIA¹

	25°C	30°C	37°C
Niños (1-14 años)	< 400 U/L	< 480 U/L	< 645 U/L
Adultos	60 - 170 U/L	73 - 207 U/L	98 - 279 U/L

Factores que pueden afectar los valores de referencia son: ejercicio, periodos de crecimiento en niños y embarazo.

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 0 U/L hasta el límite de linealidad 1200 U/L.

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

Precisión:

Media (U/L)	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
	SD	CV (%)	SD	CV (%)
167	0,94	0,56	166	2,07
424	1,93	0,46	430	1,38

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,0003 ΔA/min.

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

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r²): 0,999.

Ecuación de la recta de regresión: y=0,999x - 0,918.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

El fluoruro, oxalato, citrato y EDTA inhiben la actividad de la fosfatasa alcalina, por lo que no deben ser utilizados como anticoagulantes.

La hemólisis interfiere debido a la elevada concentración de fosfatasa alcalina en los hematíes^{1,2}. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la fosfatasa alcalina^{3,4}.

NOTAS

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

BIBLIOGRAFÍA

- Wenger C. et al. Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St.Louis. Toronto. Princeton 1984; 1094-1098.
- Rosalki S et al. Clin Chem 1993; 39/4: 648-652.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz NW et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 1001130	Cont.	R1: 20 x 3 mL, R2: 20 → 3 mL
Ref: 1001131		R1: 1 x 150 mL, R2: 10 → 15 mL
Ref: 1001132		R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL



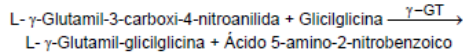
γ - GT
Substrato carboxilado. Cinético

Determinación cuantitativa de gamma-glutamyl transferasa (γ – GT) IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La gamma-glutamyl transferasa (γ-GT) cataliza la transferencia de un grupo γ-glutamilo de la γ-glutamyl-p-nitroanilida al dipéptido aceptor glicilglicina, según la siguiente reacción:



La velocidad de formación del ácido 5-amino-2-nitrobenzoico, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de γ-GT en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La gamma-glutamyl transferasa (γ-GT) es una enzima que se encuentra presente en casi todos los tejidos del organismo, siendo particularmente alta en hígado, páncreas, riñón y próstata.

La determinación de los niveles de gamma-glutamyl transferasa (γ-GT) es el método más útil para el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades hepatobiliares como obstrucción hepática, cirrosis o tumores hepáticos^{1,2,5,6}.

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

REACTIVOS

R 1	TRIS pH 8,25	100 mmol/L
R 2	Glicilglicina	100 mmol/L
Substrato	L-γ-glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida	3 mmol/L

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT):

Ref: 1001185

Disolver (→) una tableta de R 2 Substrato en un vial de R 1 Tampón.

Ref: 1001186

Disolver (→) una tableta de R 2 Substrato en 15 mL de R 1 Tampón.

Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

Estabilidad: 21 días a 2-8°C o 5 días a temperatura ambiente (15-25°C).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

No usar las tabletas si aparecen fragmentadas.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias del Blanco a 405 ≥ 1,20.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 405 nm.
- Baño termostatable a 25°C, 30°C ó 37°C (± 0,1°C)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero¹. La γ-GT es estable hasta 3 días a 2-8°C, 8 horas a 15-25°C y 1 mes a -20°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 405 nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura constante 25°C / 30°C / 37°C

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

3. Pipetear en una cubeta:

RT (mL)	1,0
Muestra (μL)	100

4. Mezclar, esperar 1 minuto.

- Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.
- Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto (ΔA/min).

CÁLCULOS

$$\Delta A/\text{min} \times 1190 = \text{U/L de } \gamma\text{-GT}$$

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

Factores de conversión de temperaturas

Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

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

CONTROL DE CALIDAD

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

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

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

VALORES DE REFERENCIA¹

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

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 2,56 U/L hasta el límite de linealidad 250 U/L.

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

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (U/L)	45,7	203	45,5	203
SD	0,66	1,72	1,04	3,43
CV (%)	1,44	0,85	2,28	1,69

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,0008 ΔA/min.

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

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r): 0,99.

Ecuación de la recta de regresión: y= 0,9919x – 0,1042.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No utilizar plasma. Los anticoagulantes inhiben al enzima. La hemólisis elevada interfiere en el ensayo¹. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la γ-GT^{3,4}.

NOTAS

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

BIBLIOGRAFÍA

- Gendler S. γ-GT. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1120-1123.
- Persijn J P et al. J Clin Chem Clin Biochem 1976; (14) 9: 421-427.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 1001185	Cont.	20 x 2 mL
Ref: 1001186		10 x 15 mL



CE GOT (AST)-LQ

GOT (AST)

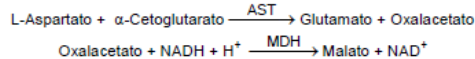
NADH. Cinético UV. IFCC rec. Líquido

Determinación cuantitativa de aspartato aminotransferasa GOT (AST) IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

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



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

SIGNIFICADO CLÍNICO

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

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

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

REACTIVOS

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

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT):

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

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

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

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

MATERIAL ADICIONAL

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

MUESTRAS

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

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda:340 nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura constante25°C / 30°C / 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.
- Pipetear en una cubeta:

RT (mL)	1,0
Muestra (μL)	100

- Mezclar, incubar 1 minuto.

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

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

CÁLCULOS

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

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

Factores de conversión de temperaturas

Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

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

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

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

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

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

VALORES DE REFERENCIA¹

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

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 1 U/L hasta el límite de linealidad 260 U/L.

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

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (U/L)	17,0	135	17,3	131
SD	0,72	1,05	0,81	2,25
CV (%)	4,27	0,77	4,68	1,72

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,0048 $\Delta\text{A}/\text{min}$.

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

Los resultados obtenidos con 100 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r): 0.9839.

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0.9866x + 0.588$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

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

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

NOTAS

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

BIBLIOGRAFÍA

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

PRESENTACIÓN

Ref: 41270		R1	60 mL
		R2	15 mL
Ref: 41272	Cont.	R1	240 mL
		R2	60 mL



GPT (ALT)-LQ

GPT (ALT)

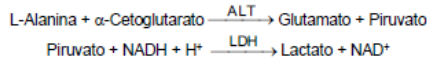
NADH. Cinético UV. IFCC rec. Líquido

Determinación cuantitativa de alanina aminotransferasa GPT (ALT) IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

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



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

SIGNIFICADO CLÍNICO

La ALT es una enzima intracelular, se encuentra principalmente en las células del hígado y el riñón.

Su mejor aplicación es en el diagnóstico de las enfermedades del hígado. Se observan niveles elevados en enfermedades hepáticas como la hepatitis, enfermedades de los músculos y traumatismos.

Cuando se emplean en conjunción con la AST ayuda en el diagnóstico de infartos de miocardio, ya que el valor de la ALT se mantiene dentro de los límites normales y aumenta en los niveles de AST^{1,4,5}.

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

REACTIVOS

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

PRECAUCIONES

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

PREPARACIÓN

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

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

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

MATERIAL ADICIONAL

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

MUESTRAS

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

PROCEDIMIENTO

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

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

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

CÁLCULOS

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

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

Factores de conversión de temperaturas

Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

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

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

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

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

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

VALORES DE REFERENCIA^{4,5}

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

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

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

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

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

Precisión:

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
	Media (U/L)			
Media (U/L)	42,0	116	41,1	115
SD	0,47	0,42	0,76	1,61
CV (%)	1,11	0,36	1,85	1,40

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

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

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

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

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

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

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

NOTAS

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

BIBLIOGRAFÍA

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

PRESENTACIÓN

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

SPINREACT



AMYLASE-LQ

α - Amilasa

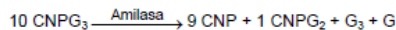
CNPG₃. Cinético. Líquido

Determinación cuantitativa de α -amilasa (AMS) IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

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



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

SIGNIFICADO CLÍNICO

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

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

REACTIVOS

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

PREPARACIÓN

Reactivo listo para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

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

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias del Blanco a 405 \geq 0,50.

MATERIAL ADICIONAL

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

MUESTRAS

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

PROCEDIMIENTO

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

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

- Mezclar, incubar 30 segundos.
- Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.

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

CÁLCULOS

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

Orina $\Delta A/\text{min} \times 7908 = \text{U/L AMS}$

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

Factor de conversión: U/L \times 0,01667 = μ kat/L.

CONTROL DE CALIDAD

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

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

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

VALORES DE REFERENCIA³

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

Orina Hasta 450 U/L de α -amilasa

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 1 U/L hasta el límite de linealidad 2000 U/L.

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

Précisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (U/L)	61,2	165	65,1	172
SD	1,00	2,44	2,84	4,57
CV (%)	1,64	1,47	4,36	2,65

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,0003 $\Delta A/\text{min}$.

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

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

La hemólisis interfiere en los resultados¹. La actividad α -amilasa puede ser inhibida por agentes quelantes como citrato y EDTA.

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

NOTAS

- La α -amilasa es temperatura-dependiente, los ensayos realizados a temperaturas $<37^\circ\text{C}$ o $>37^\circ\text{C}$ pueden variar los resultados.
- 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.
- Contiene tiocianato potásico. Evitar inhalación o contacto del reactivo con la piel y ojos. En tal caso, lavar la piel y los ojos con abundante agua y consultar a un médico.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFÍA

- Ying Foo A et al. Amylase measurement with 2-chloro-4-nitrophenyl maltotriósido as substrate. Clin Chim 272, 1998; 137-147.
- McNeely M. Amylase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1112-1116.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

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



LIPASE-LQ

Lipasa-LQ

Cinético colorimétrico. Líquido

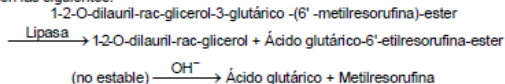
Determinación cuantitativa de lipasa

IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

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



La velocidad de formación de metilresorufina determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de lipasa en la muestra ensayada.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La lipasa (LPS) es una enzima pancreática necesaria para la absorción y digestión de los nutrientes, cataliza la hidrólisis de los ésteres de glicerol de los ácidos grasos. La determinación de la LPS es útil para el diagnóstico de enfermedades del páncreas como pancreatitis aguda y obstrucción pancreática^{1,7,8}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1 Tampón	TRIS pH 8,3 Colipasa Desoxicolato Taurodesoxicolato	40 mmol/L ≥ 1 mg/L 1,8 mmol/L 7,2 mmol/L
R 2 (micro-emulsión)	Tartrato pH 4,0 Sustrato de Lipasa Cloruro cálcico (CaCl ₂)	15 mmol/L ≥ 0,7 mmol/L 0,1 mmol/L
LIPASA CAL	Patrón. Suero humano liofilizado. La actividad de la LPS (U/L de metilresorufina a 37°C) está indicada en la etiqueta del vial	

PRECAUCIONES

LIPASE CAL Todos los componentes de origen humano han resultado ser negativos para el antígeno HBs, HCV y para el anti-HIV (1/2). Sin embargo, deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos.

PREPARACIÓN

- R1 – R 2 Listos para su uso.
- R2 Mezclar suavemente antes de usar ^(Nota 1).
- LIPASE CAL: Reconstituir (→) con 1 mL de agua destilada. Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido. Estabilidad: 7 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias del Blanco a 580 ≥ 1,4.
- R 2 micro-emulsión de color naranja, descartar si se vuelve roja.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 580 nm.
- Baño termostable a 37°C (± 0,1°C)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma con citrato sódico, EDTA o heparina¹. No congelar y descongelarlas las muestras repetidas veces. Estabilidad: 2 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 580 nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura constante: 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta ^(Nota 2):

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

- Mezclar, incubar a 37°C 1 minuto.

- Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia cada minuto durante 2 minutos.
- Calcular el promedio de la diferencia de absorbancia por minuto (ΔA/min).

CÁLCULOS

(ΔA/min) Muestra - (ΔA/min) Blanco = (ΔA/min) Muestra

(ΔA/min) Patrón - (ΔA/min) Blanco = (ΔA/min) Calibrador

$$\frac{\Delta A/\text{min Muestra}}{\Delta A/\text{min Calibrador}} \times \text{Actividad Calibrador} = \text{U/L de lipasa en la muestra}$$

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

Factor de conversión: LPS [U/L] x 0,01667 = LPS [µkal/L]

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

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

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

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

VALORES DE REFERENCIA¹

≤ 38 U/L (U/L de metilresorufina a 37°C).

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 5 U/L hasta el límite de linealidad 250 U/L.

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (U/L)	40,2	59,35	38,5	58,9
SD	0,410	0,875	1,10	1,25
CV (%)	1,02	1,47	2,86	2,13

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,00059792 (A)

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

Los resultados obtenidos con 101 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r)²: 0,99732.

Ecuación de la recta de regresión: y = 0,50054x + 3,9443.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Triglicéridos a 300 mg/dL interfieren en la determinación de la lipasa reduciendo su actividad un 6%. Hemoglobina hasta 150 mg/dL y bilirrubina hasta 20 mg/dL no interfieren^{2,3,4}.

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

NOTAS

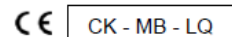
- En algunas condiciones de almacenamiento (p.e. almacenaje a temperatura inferior a la recomendada) puede aparecer precipitación, que no influye en su funcionalidad; es recomendable resuspender mediante rotación suave del vial.
- A fin de evitar contaminaciones se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- McNeely M. Lipase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1130-1134, 892.
- Neumann U et al. Comptes Rend. 4 colloque de Pont-a-Musson, Masson 627-634 (1979)
- Junge W et al. J.Clin.Chem.Clin.Biochem., 21 445-451 (1983).
- Neumann U et al. Methods of Enzymatics Analysis, 3rd ed. Vol.4, 26-34 (1984)
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 1001275 Cont. R1: 4 x 10 mL, R2: 1 x 8 mL, CAL: 1 x 1 mL
Ref: 1001274 R1: 2 x 10 mL, R2: 1 x 4 mL, CAL: 1 x 1 mL



CK-MB-LQ (Creatina quinasa – MB)

Anti CK-M. Inmuno-inhibición. Cinético UV. Líquido

Determinación cuantitativa de creatina quinasa-MB (CK-MB)

IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Método basado en la medición de la actividad de la CK en presencia del anticuerpo anti CK-M, que inhibe completamente la actividad de la CK-MM y la subunidad (M) de la CK-MB, no afectando a la actividad de la CK-B y la CK-BB. A través del método de la CK se determina la actividad de la CK-B en la muestra ensayada^{1,2}. La actividad de la CK-MB se obtiene multiplicando por dos la actividad de la CK-B.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La CK-MB es una enzima compuesta de dos subunidades, la subunidad M expresada en el músculo y la subunidad B, expresada en las células nerviosas. La CK-MB se encuentra en el suero en concentraciones bajas, se incrementa como consecuencia de un infarto de miocardio y después desciende a niveles normales. Puede incrementarse, más raramente, en traumatismos del músculo esquelético^{3,4,5}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1	Imidazol pH 6.7	125 mmol/L
	D-Glucosa	25 mmol/L
	N-Acetyl-L-Cysteine	25 mmol/L
	Acetato de magnesio	12.5 mmol/L
	NADP	2.52 mmol/L
	EDTA	2.02 mmol/L
	Hexokinase	≥8 800 U/L
Anticuerpo policlonal (oveja) anti CK-M humano suficiente para inhibir hasta 2 000 U/L of CK-MM		
R 2	ADP	15.2 mmol/L
	AMP	25 mmol/L
	di-Adenosina-5- pentafofato	103 mmol/L
	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6F-DH)	≥8 800 U/L
	Fosfato de creatina	250 mmol/L

Opcional

CK-NAC / CK-MB CONTROL	Suero humano liofilizado	Ref. 1002260
------------------------	--------------------------	--------------

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT): Mezclar 4 volúmenes de reactivo 1 con un volumen de reactivo 2.
Estabilidad: 7 días a 2-8°C o 12 horas a temperatura ambiente (20-25°C).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias (A) del Blanco a 340 ≥ 1.2.

MATERIAL ADICIONAL

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

MUESTRAS

Suero libre de hemólisis o plasma heparinizado. Estabilidad: 7 días a 2-8°C, protegida de la luz.

La actividad de la CK-MB en el suero disminuye un 10% tras 24 horas a 4°C o tras 1 hora a 25°C.

PROCEDIMIENTO

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

RT (mL)	1,0
Muestra (µL)	40

- Mezclar e inocular 10 minutos.
- Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronómetro y leer la absorbancia de nuevo a los 5 minutos (A₂).
- Calcular la diferencia de absorbancias: ΔA = A₂ - A₁.

CÁLCULOS

$$\Delta A \times 825 = \text{U/L de CK-B} \quad \Delta A \times 1651 = \text{U/L de CK-MB}$$

El factor de cálculo en analizadores automáticos por método cinético (ΔA/min) es 8255.

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

Factores de conversión de temperaturas

Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

Temperatura de medición	Factor para convertir a		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,53	2,38
30°C	0,85	1,00	1,56
37°C	0,42	0,64	1,00

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente utilizar el control de suero específico CK-NAC/ CK-MB (Ref.1002260).

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

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

VALORES DE REFERENCIA

La sospecha de daño miocárdico se basa en las tres siguientes condiciones:

CK-MB	> 10 U/L	> 15 U/L	> 24 U/L
CK TOTAL	25°C	30°C	37°C
Hombres, hasta	80 U/L	130 U/L	195 U/L
Mujeres, hasta	70 U/L	110 U/L	170 U/L

Actividad de la CK – MB

Actividad de la CK Total x 100 = 0 - 25% de actividad de CK - MB en la muestra

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 1,9 U/L hasta el límite de linealidad 318 U/L. Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/1 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie		Interserie	
	Media (U/L)	SD	Media (U/L)	SD
Media (U/L)	33,7	166,6	31,3	161,0
SD	1,00	3,78	1,19	3,47
CV (%)	2,98	2,26	3,81	2,15

Sensibilidad analítica: 1 U/L= 0,000134 (A).

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

Coefficiente de correlación (r²): 0,999.

Ecuación de la recta de regresión: y = 0,976 x - 0,289.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (mezcla de isómeros): Menos del 10% de interferencia hasta 800 µmol/L de Bilirrubina.

Hemólisis: Menos del 10% de interferencia hasta 1,25 g/L de Hemoglobina.

Lipemia: Menos del 10% de interferencia hasta 2,5 g/L de Intralipidos.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de CK-MB^{6,7}.

LIMITACIONES DEL MÉTODO

Este método medirá también la actividad de la isoenzima CK-BB que esté presente en el suero, aunque suele ser insignificante. Sin embargo ante una presencia significativa de CK-BB, la actividad de la CK-MB presente sería sobreestimada.

Si la actividad de CK-B obtenida excede el 20% de la actividad de la CK total, debe sospecharse de la presencia de macro BB (complejo de inmunoglobulina), medida como B en el ensayo.

NOTAS

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

BIBLIOGRAFÍA

- Abbot B et al. Creatinine kinase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984: 1112-116.
- Gerhardt W. et al. Creatine kinase B-Subunit activity in serum after immunoinhibition of M-Subunit activity. Clin Chem 1979;(25/7): 1274-1280.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.
- Mathieu M. et coll. Recommendation pour la mesure de la concentration catalytique de la créatine kinase dans le sérum humain. Ann. Biol. Clin, 40, (1482), 87.
- Neumeier, D., Prellwitz, W., Würzburg, U. et coll. Determination of creatine kinase isoenzyme MB activity in serum using immunological inhibition of creatine kinase M subunit activity. Activity kinetics and diagnostic significance in myocardial infarction. Clin. Chim. Acta, 73, (1976), 445.

PRESENTACIÓN Ref: 41254

Cont.

R1: 1 x 60 mL
R2: 1 x 15 mL
CONTROL: 1 x 2 mL



LDH

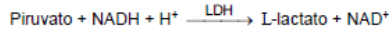
Piruvato. Cinética UV. DGKC

Determinación cuantitativa de lactato deshidrogenasa (LDH) IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

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



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

SIGNIFICADO CLÍNICO

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

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

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

REACTIVOS

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

PRECAUCIONES

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

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT):

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

Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

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

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

No usar las tabletas si aparecen fragmentadas.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

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

MATERIAL ADICIONAL

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

MUESTRAS

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

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 340 nm

Cubeta: 1 cm paso de luz

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

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

3. Pipetear en una cubeta:

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

4. Mezclar, incubar 1 minuto.

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

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

CÁLCULOS

25° - 30°C ΔA/min x 4925 = U/L LDH

37°C ΔA/min x 9690 = U/L LDH

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

Factores de conversión de temperaturas

Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

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

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

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

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

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

VALORES DE REFERENCIA¹

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

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

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

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

Precisión:

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

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

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

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r²): 0,987.

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

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

La presencia de hemólisis interfiere con los resultados.

Algunos anticoagulantes como los oxalatos interfieren en la reacción¹.

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

NOTAS

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

BIBLIOGRAFÍA

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

PRESENTACIÓN

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

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