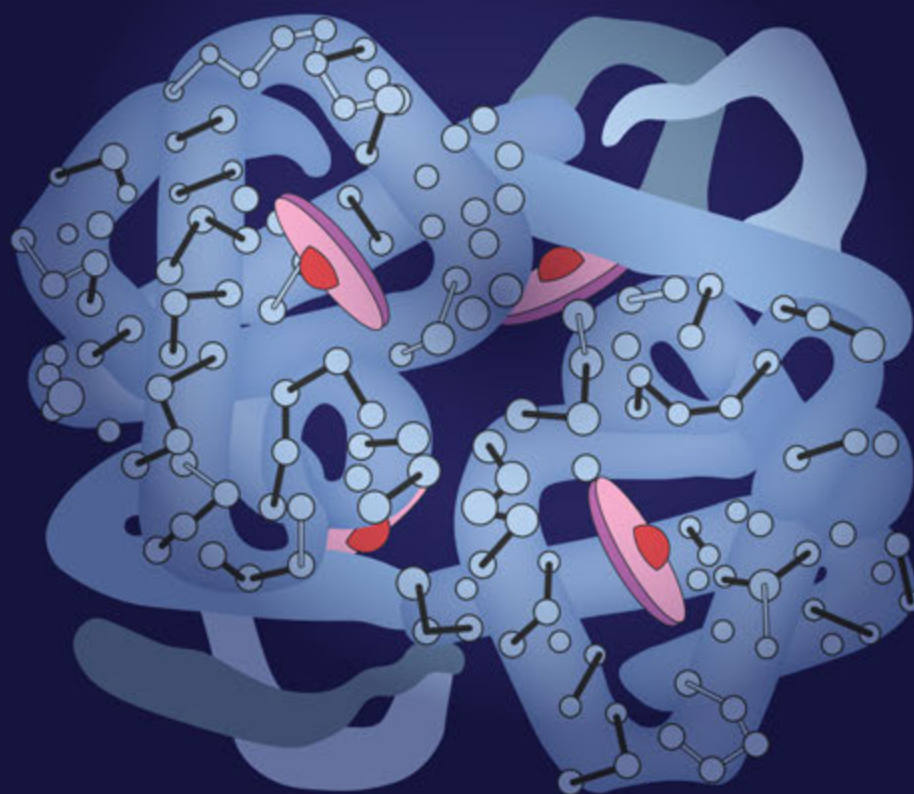




# BIOQUÍMICA CLÍNICA

## PARA CIENCIAS DE LA SALUD

1<sup>RA</sup> EDICIÓN



EDICIONES MAWIL

# BIOQUÍMICA CLÍNICA

## PARA CIENCIAS DE LA SALUD

Q. F. Nancy Azucena Sorroza Rojas M. Sc.  
Q. F. Homero Enrique Jinez Jinez M. Sc.  
Dra. Lidia Dayana Jinez Sorroza  
Q. F. Bolívar Enrique Jinez Sorroza  
Q. F. Dolores Beatriz Erazo López M. Sc.  
B. Q. F. Diana Haydée Serafín Alvarez M. Sc.  
Q. F. Maria Magdalena Aray Andrade M. Sc.  
Blga. Nancy Violeta Cajas Flores M. Sc.  
Est. Jesús Eliecer Rodríguez Villacis  
Est. Jean Pool Jinez Sorroza

EDICIONES **MAWIL**

# BIOQUÍMICA CLÍNICA

## PARA CIENCIAS DE LA SALUD

### AUTORES

**Q. F. Nancy Azucena Sorroza Rojas M. Sc.**

Magíster en Bioquímica Clínica; Química y Farmacéutica;  
Docente; Universidad Espíritu Santo; Guayaquil, Ecuador;  
nancysorroza@uees.edu.ec  
<https://orcid.org/0000-0002-2205-3790>

**Q. F. Homero Enrique Jinez Jinez M. Sc.**

Magíster en Bioquímica Clínica; Química y Farmacéutica;  
Gerente; Laboratorio Clínico "DAYANA"; Guayaquil, Ecuador;  
jinezjinez@hotmail.com;  
<https://orcid.org/0000-0002-2461-2437>

**Dra. Lidia Dayana Jinez Sorroza**

Médico; Laboratorio Clínico "DAYANA"; Guayaquil, Ecuador;  
<https://orcid.org/0000-0001-5868-2102>

**Q. F. Bolívar Enrique Jinez Sorroza**

Químico y Farmacéutico; Sub- Gerente y Analista;  
Laboratorio Clínico "DAYANA"; Guayaquil, Ecuador;  
kikejinez@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0002-4329-8404>

**Q. F. Dolores Beatriz Erazo López M. Sc.**

Magíster en Bioquímica Clínica; Química y Farmacéutica;  
Docente; Universidad de Guayaquil; Guayaquil, Ecuador;  
dolores.erazol@ug.Edu.ec  
<https://orcid.org/0000-0001-7186-0700>

## BIOQUÍMICA CLÍNICA PARA CIENCIAS DE LA SALUD



### **B. Q. F. Diana Haydée Serafín Alvarez M. Sc.**

Magíster en Bioquímica Clínica; Bioquímico Farmacéutico;  
Doctor en Bioquímica y Farmacia; Docente;  
Universidad Técnica de Machala; Machala, Ecuador;  
dserafin@utmachals.edu.ec  
<https://orcid.org/0000-0002-2688-7864>

### **Q. F. Maria Magdalena Aray Andrade M. Sc.**

Diploma Superior en Educación Superior;  
Magíster en Biociencias Aplicadas con Mención en  
Biodescubrimiento; Master Internacional en Nutrición y  
Dietética Aplicada mención en Desnutrición al Amparo  
del Artículo 126 de la Ley Orgánica de la Educación Superior se  
Reconocen estos Títulos como Títulos Propios;  
Química y Farmacéutica; Universidad Espíritu Santo;  
Guayaquil, Ecuador;  
maray@uees.edu.ec  
<https://orcid.org/0000-0001-6723-2285>

### **Blga. Nancy Violeta Cajas Flores M. Sc.**

Diploma Superior en Diseño Curricular por Competencias;  
Magíster en Biotecnología; Diploma Superior en Formulación y Evaluación de  
Proyectos de Investigación; Especialista en Biotecnología Biología Molecular e  
Ingeniería Genética; Bióloga;  
Universidad Espíritu Santo; Guayaquil, Ecuador;  
ncajasf@uees.edu.ec  
<https://orcid.org/0000-0002-7134-6872>

### **Est. Jesús Eliecer Rodríguez Villacis**

Estudiante; Universidad Espíritu Santo; Guayaquil, Ecuador;  
jesusrodriguez@uees.edu.ec  
<https://orcid.org/0000-0003-1939-6917>

### **Est. Jean Pool Jinez Sorroza**

Estudiante; Universidad Espíritu Santo; Guayaquil, Ecuador  
jjinez@uees.edu.ec  
<https://orcid.org/0000-0002-1481-0106>

EDICIONES **MAWIL**

# BIOQUÍMICA CLÍNICA

## PARA CIENCIAS DE LA SALUD

### REVISORES

**Mg. Lcda. Doris Susana Delgado Bernal**

Magíster en Gerencia de Salud para el Desarrollo Local;  
Licenciada en Enfermería  
Carrera de Enfermería;  
*Universidad Estatal del Sur de Manabí*  
[delgado.susana@hotmail.com](mailto:delgado.susana@hotmail.com)

**Mg. Lcda. Delia Georgina Bravo Bonoso**

Magíster en Emergencias Médicas;  
Licenciada en Ciencias de la Enfermería  
Carrera de Enfermería;  
*Universidad Estatal del Sur de Manabí*  
[deliabravo85@hotmail.com](mailto:deliabravo85@hotmail.com)

# DATOS DE CATALOGACIÓN

## AUTORES:

Q. F. Nancy Azucena Sorroza Rojas M. Sc.  
Q. F. Homero Enrique Jinez Jinez M. Sc.  
Dra. Lidia Dayana Jinez Sorroza  
Q. F. Bolívar Enrique Jinez Sorroza  
Q. F. Dolores Beatriz Erazo López M. Sc.  
B. Q. F. Diana Haydée Serafín Álvarez M. Sc.  
Q. F. Maria Magdalena Aray Andrade M. Sc.  
Blga. Nancy Violeta Cajas Flores M. Sc.  
Est. Jesús Eliecer Rodríguez Villacis  
Est. Jean Pool Jinez Sorroza

**Título:** Bioquímica Clínica para Ciencias de la Salud

**Descriptores:** Bioquímica, ciencias médicas, laboratorio, atención médica

**Código UNESCO:** 2302 Bioquímica

**Clasificación Decimal Dewey/Cutter:** 572/So697

**Área:** Ciencias Médicas

**Edición:** 1<sup>era</sup>

**ISBN:** 978-9942-826-68-8

**Editorial:** Mawil Publicaciones de Ecuador, 2021

**Ciudad, País:** Quito, Ecuador

**Formato:** 148 x 210 mm.

**Páginas:** 178

**DOI:** <https://doi.org/10.26820/978-9942-826-68-8>



Texto para docentes y estudiantes universitarios

El proyecto didáctico **Bioquímica Clínica para Ciencias de la Salud**, es una obra colectiva escrita por varios autores y publicada por MAWIL; publicación revisada por el equipo profesional y editorial siguiendo los lineamientos y estructuras establecidos por el departamento de publicaciones de MAWIL de New Jersey.

© Reservados todos los derechos. La reproducción parcial o total queda estrictamente prohibida, sin la autorización expresa de los autores, bajo sanciones establecidas en las leyes, por cualquier medio o procedimiento.

**Director Académico:** PhD. Jose María Lalama Aguirre

**Dirección Central MAWIL:** Office 18 Center Avenue Caldwell; New Jersey # 07006

**Gerencia Editorial MAWIL-Ecuador:** Mg. Vanessa Pamela Quishpe Morocho

**Editor de Arte y Diseño:** Lic. Eduardo Flores, Arq. Alfredo Díaz

**Corrector de estilo:** Lic. Marcelo Acuña Cifuentes

# **BIOQUÍMICA CLÍNICA**

## PARA CIENCIAS DE LA SALUD

### **ÍNDICE**



EDICIONES **MAWIL**



## Contenido

PRÓLOGO.....	17
INTRODUCCIÓN.....	19

## CAPÍTULO I

### MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA SEGÚN LA ORGANIZACIÓN

<b>MUNDIAL DE LA SALUD</b> .....	22
Bioseguridad en laboratorios de los niveles 1 y 2 .....	28
Protocolos de trabajo o Códigos de prácticas .....	29
Acceso a los laboratorios.....	29
Protección personal .....	30
Procedimientos.....	31
Áreas de trabajo .....	31
Gestión de la bioseguridad.....	32
Diseño e instalaciones del laboratorio .....	32
Características de diseño .....	32
Material de bioseguridad indispensable.....	33
Vigilancia médica y sanitaria.....	33
Capacitación .....	33
Manipulación de desechos .....	34
Identificación y separación de los diferentes materiales de desechos obtenidos .....	34
Recolección de Muestras .....	36
Sangre completa .....	36
Suero .....	38
Plasma.....	39
Líquido cefalorraquídeo (LCR).....	40
Orina.....	40
Heces fecales.....	41
Punción venosa .....	42
Equipos básicos para realizar una punción venosa .....	43
Condiciones de la toma de muestra de sangre venosa .....	45



# BIOQUÍMICA CLÍNICA PARA CIENCIAS DE LA SALUD



Procedimiento para la punción venosa.....	46
Criterios para rechazo de muestras .....	47
Sustancias interferentes .....	48
Estabilidad y almacenamiento de muestras biológicas.....	48
Temperaturas para almacenar muestras biológicas.....	49
Contenedores de muestras biológicas .....	50
Almacenamiento de la orina.....	50
Almacenamiento de las heces .....	50

## **CAPÍTULO II**

<b>GLUCOSA EN SANGRE</b> .....	51
Significación clínica.....	52
Determinación de niveles de glicemia.....	52
Objetivos .....	52
Principio del Método .....	53
Valores de referencia.....	54
Glucosa postprandial .....	54
Significación clínica.....	54
Prueba de Tolerancia Oral a la Glucosa .....	55
Diagnóstico .....	55
Hemoglobina Glicosilada y su fracción A1c (HbA1c) .....	56
Objetivos .....	57
Principio del Método .....	57
Condiciones de la muestra .....	58
Valores de referencia.....	58
Diagnóstico .....	58

## **CAPÍTULO III**

<b>PERFIL LIPÍDICO</b> .....	59
Clasificación de los lípidos .....	60
Importancia clínica de los lípidos sanguíneos.....	60
Colesterol total.....	61
Determinación de Colesterol en sangre.....	62
Objetivos .....	62
Fundamentos.....	62



Condiciones .....	63
Valores de referencia.....	63
Diagnóstico .....	63
Fracciones de Colesterol (HDL, LDL y VLDL).....	64
Determinación Bioquímica de las HDL .....	64
Objetivos .....	65
Determinación de las LDL y las VLDL .....	66
Valores de Referencia de LDL-colesterol (*) .....	67
Diagnóstico .....	67
Triglicéridos .....	68
Determinación de Triglicéridos en sangre .....	69
Objetivos .....	69
Fundamentos.....	69
Condiciones .....	70
Diagnóstico .....	70

## **CAPÍTULO IV**

<b>PERFIL RENAL .....</b>	<b>71</b>
Urea.....	72
Objetivos .....	72
Fundamentos.....	73
Condiciones .....	74
Conversiones.....	74
Valores de referencia .....	74
Diagnóstico .....	74
Determinación de Creatinina.....	75
Objetivos .....	75
Fundamentos.....	76
Condiciones .....	77
Valores de referencia.....	77
Diagnóstico .....	78
Determinación de Ácido Úrico.....	78
Objetivos .....	79
Fundamentos .....	79

# BIOQUÍMICA CLÍNICA PARA CIENCIAS DE LA SALUD



Condiciones .....	80
Valores de referencia .....	80
Diagnóstico .....	80

## **CAPÍTULO V**

<b>PERFIL HEPÁTICO</b> .....	81
La Bilirrubina .....	82
Determinación de las Bilirrubinas .....	83
Objetivos .....	83
Fundamentos.....	83
Condiciones .....	84
Valores de referencia .....	85
Diagnóstico .....	85
Transaminasas .....	87
Objetivos .....	88
Fundamentos.....	89
Condiciones .....	90
Valores de referencia.....	90
Diagnóstico .....	90
Fosfatasa alcalina.....	91
Objetivos .....	91
Fundamentos.....	92
Condiciones .....	92
Valores de referencia.....	92
Diagnóstico .....	93
Proteínas sanguíneas .....	93
Objetivos .....	94
Fundamentos.....	95
Condiciones .....	95
Valores de referencia.....	96
Diagnóstico .....	96

## **Capítulo VI**

<b>ENZIMAS</b> .....	97
Amilasa.....	98



Objetivos .....	99
Fundamentos.....	99
Condiciones .....	99
Valores de referencia .....	100
Diagnóstico .....	100
La lipasa.....	100
Objetivos .....	100
Fundamentos.....	101
Condiciones .....	101
Valores de referencia .....	101
Diagnóstico .....	101
Fosfatasa ácida total y prostática .....	101
Objetivos .....	102
Fundamentos.....	102
Condiciones .....	103
Valores de referencia .....	103
Diagnóstico .....	103

## **CAPITULO VII**

<b>ELECTROLITOS .....</b>	<b>104</b>
Sodio .....	106
Objetivos .....	107
Fundamentos.....	107
Condiciones .....	108
Valores de referencia .....	108
Diagnóstico .....	108
Potasio.....	109
Objetivos .....	109
Fundamentos.....	109
Condiciones .....	110
Valores de referencia .....	110
Diagnóstico .....	110
Cloro .....	111
Objetivos .....	111
Fundamentos.....	112

# BIOQUÍMICA CLÍNICA PARA CIENCIAS DE LA SALUD



Condiciones .....	112
Valores de referencia .....	112
Diagnóstico .....	112
Calcio .....	112
Objetivos .....	113
Fundamentos.....	113
Condiciones .....	115
Valores de referencia .....	115
Diagnóstico .....	115

<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>119</b>
---------------------------	------------

<b>ACTIVIDADES PARA ESTUDIANTES BIOQUÍMICA CLÍNICA PARA CIENCIAS DE LA SALUD .....</b>	<b>129</b>
--	------------

<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>123</b>
--------------------------	------------

## **CAPÍTULO I**

<b>Medidas de bioseguridad en el laboratorio de bioquímica clínica según la organización mundial de la salud .....</b>	<b>125</b>
Recordar.....	126
Autotest .....	127
<b>TOMA DE MUESTRA: PUNCIÓN VENOSA .....</b>	<b>128</b>
Recordar.....	128
Autotest .....	129

## **CAPÍTULO II**

<b>GLUCOSA EN SANGRE .....</b>	<b>130</b>
Recordar.....	131
Autotest .....	132

## **CAPÍTULO III**

<b>PERFIL LIPÍDICO. COLESTEROL .....</b>	<b>133</b>
--	------------



Recordar.....	134
Autotest .....	135
FRACCIONES DEL COLESTEROL: HDL.....	136
Recordar.....	136
Autotest .....	137
FRACCIONES DEL COLESTEROL: LDL Y VLDL .....	138
Recordar.....	138
Autotest .....	139
TRIGLICERIDOS.....	140
Recordar.....	140
Autotest .....	141

## **CAPÍTULO IV**

<b>PERFIL RENAL UREA</b> .....	142
Recordar.....	143
Autotest .....	144
CREATININA.....	145
Recordar.....	145
Autotest .....	146
ÁCIDO URICO.....	147
Recordar.....	147
Autotest .....	148

## **CAPÍTULO V**

<b>PERFIL HEPÁTICO BILIRRUBINA</b> .....	149
Recordar.....	150
Autotest .....	151
TRANSAMINASAS.....	152
Recordar.....	152
Autotest .....	153
FOSFATASA ALCALINA.....	154
Recordar.....	154
Autotest .....	155
PROTEINAS SANGUÍNEAS.....	156
Recordar.....	156

# BIOQUÍMICA CLÍNICA PARA CIENCIAS DE LA SALUD



Autotest .....	157
ALBUMINA .....	158
Recordar.....	158
Autotest .....	159

## **CAPÍTULO VI**

<b>ENZIMAS. AMILASA .....</b>	<b>160</b>
Recordar.....	161
Autotest .....	162
LIPASA.....	163
Recordar.....	163
Autotest .....	164
FOSFATASA ACIDA TOTAL Y PROSTATICA.....	165
Recordar.....	165
Autotest .....	166

## **CAPITULO VII**

<b>ELECTROLITOS .....</b>	<b>167</b>
Recordar.....	168
Autotest .....	169
SODIO .....	170
Recordar.....	170
Autotest .....	171
POTASIO .....	172
Recordar.....	172
Autotest .....	173
COLORO .....	174
Recordar.....	174
Autotest .....	175
CALCIO .....	176
Recordar.....	177
Autotest .....	177

# **BIOQUÍMICA CLÍNICA**

## PARA CIENCIAS DE LA SALUD

**TABLAS**



EDICIONES **MAWIL**



## **BIOQUÍMICA CLÍNICA** PARA CIENCIAS DE LA SALUD



Tabla 1. Niveles según las tareas que se realizan y los riesgos biológicos que se manejan (1) .....	25
Tabla 2. Síntesis de condiciones de bioseguridad en laboratorios de bioquímica clínica (1) .....	26

# **BIOQUÍMICA CLÍNICA**

## PARA CIENCIAS DE LA SALUD

### **PRÓLOGO**



EDICIONES **MAWIL**

## **BIOQUÍMICA CLÍNICA** PARA CIENCIAS DE LA SALUD



Una de las áreas de mayor valor diagnóstico en el ámbito de las Ciencias de la Salud, es la Bioquímica, ya que son los análisis de los diversos fluidos y tejidos corporales, los que permiten determinar exactamente cómo está funcionando el organismo de un determinado paciente, a partir del estudio del comportamiento de las células, enzimas y electrolitos.

En el cuerpo humano, todo está armónicamente integrado en un funcionamiento sistémico en el cual la bioquímica juega un papel determinante en la actividad de cada uno de los sistemas que componen el cuerpo en su totalidad. Por esta razón, cualquier disfunción tendrá su expresión o será consecuencia de algún aspecto desarmónico que afecta al paciente.

Los cambios y efectos que pueden causar las enfermedades pueden atenderse adecuadamente si se realiza un diagnóstico oportuno, para lo cual, además de una historia clínica detallada y completa, de un examen físico minucioso por parte del médico tratante, los exámenes complementarios de laboratorio, pueden ser determinantes para salvar la vida del paciente.

Es por ello que debe ponerse especial cuidado en la capacitación profesional en esta área, cuyo aporte es fundamental y decisivo. Esta obra representa un aporte significativo, en el cual hemos puesto el deseo pleno de ayudar a salvar vidas.

**Los autores**

# **BIOQUÍMICA CLÍNICA**

## PARA CIENCIAS DE LA SALUD

### **INTROUCCIÓ**



EDICIONES **MAWIL**

## **BIOQUÍMICA CLÍNICA PARA CIENCIAS DE LA SALUD**



La bioquímica clínica es el área de la química que se ocupa de analizar fluidos corporales de humanos (en el caso del área médica) y animales (en el caso de la veterinaria) para propósitos de prevención, diagnóstico y tratamiento. La Bioquímica clínica es una forma de química aplicada que no debe confundirse con la química médica, la cual implica las investigaciones básicas sobre el desarrollo de medicamentos y otros productos sintéticos basados en la química orgánica.

Esta disciplina se originó a finales del siglo XIX con la aparición de pruebas de reacciones químicas simples en varios componentes de la sangre y la orina. Desde hace varias décadas, se desarrollaron diversos tipos de pruebas y técnicas que fueron creadas o mejoradas por la ciencia y la tecnología, ofreciendo de manera sencilla, complejas pruebas que miden la actividad enzimática como la espectrofotometría, la electroforesis y los inmuno-ensayos. En el presente se cuenta con muchas pruebas sanguíneas y pruebas clínicas de orina con una gran capacidad de diagnóstico.

La mayoría de los laboratorios actualmente, están altamente automatizados para poder ajustarse a la elevada carga de trabajo típica de los laboratorios de clínicas u hospitales. Las pruebas realizadas son estrictamente monitoreadas para obtener un alto control de calidad.

Todas las pruebas bioquímicas se estudian con criterio de patologías químicas. Éstas se realizan con cualquier tipo de fluido corporal, y aunque la mayoría se realizan con suero o plasma, también existen pruebas bioquímicas, para la orina, las heces, el sudor y el líquido cefalorraquídeo.

Un laboratorio clínico grande, puede llegar a recibir muestras para procesar hasta 700 diferentes tipos de pruebas. Incluso, estos laboratorios, no siempre hacen todas las pruebas por sí mismos, y en algunos casos, las refieren a otros laboratorios más especializados (laboratorio de contingencia).



El hecho de que un laboratorio procese o refiera, tiene una implicación que ha sido tomada muy en cuenta en los últimos años, y es la Etapa Pre analítica, que comienza desde cómo los médicos solicitan las pruebas, seguido de la recepción del paciente, la recolección de la muestra y su preparación previa, antes de ser procesada por el operador químico y farmacéutico o bioquímico.

De acuerdo a los diferentes tipos de pruebas que hacen los laboratorios pueden clasificar en otras sub especialidades como: Laboratorio de rutina general (son los más comúnmente conocidos, para realizar exámenes de prevención o diagnóstico rutinario de uso general), Química especializada, para elaborar técnicas como electroforesis y algunos métodos manuales; endocrinología, para estudiar hormonas; toxicología, para estudiar las drogas de abuso y otros químicos; monitoreo terapéutico de medicamentos, para medir las dosis óptima de fármacos, el Físico Químico y sedimento de la orina o uroanálisis y finalmente, el estudio parasitológico de las materias fecales se utiliza para el diagnóstico de enteroparasitosis.

En este libro, presentaremos la terminología básica del trabajo en un laboratorio de bioquímica clínica para presentar las nociones de cómo funciona, sus métodos y pruebas más comunes en el laboratorio clínico.

Así, en el Capítulo 1, se presentará el tema relacionado con la bioseguridad en las diversas fases de las actividades regulares de un laboratorio clínico: la etapa pre analítica, la etapa analítica, la post analítica, en todo lo relacionado con la minimización de riesgos. En los capítulos subsiguientes se abordarán las técnicas de laboratorio en relación a los parámetros más comunes, su significación clínica, sus fundamentos teóricos y técnicos.

# **BIOQUÍMICA CLÍNICA**

## PARA CIENCIAS DE LA SALUD

### **CAPÍTULO I**

MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO  
DE BIOQUÍMICA CLÍNICA SEGÚN LA  
ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD



EDICIONES **MAWIL**



**Fotografía 1.** Promoción: año 2017. Tomada Tercer Semestre 2018 Ordinario I. Estudiantes de medicina haciendo uso de las medidas de Bioseguridad.

Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio “Dayana”

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha emitido un Manual de Bioseguridad en el Laboratorio (1) donde dicta las normas generales, y algunas particulares, que deben regir la bioseguridad en los laboratorios de bioquímica clínica. El punto más importante desde el que hay que partir, para implementar las normas de bioseguridad en un laboratorio es conocer el nivel de riesgo en que se clasifica el laboratorio en cuestión, según este manual.



Los niveles de riesgo de laboratorio están determinados por el grado de virulencia y el tipo de microorganismo con el que se trabaja. En los laboratorios de bioquímica clínica la exposición a microorganismos está dada por la concentración o carga que puedan contener fluidos orgánicos que habrán de procesarse.

Clasificación de los microorganismos por Grupos de Riesgo según la OMS (1):

- Grupo de riesgo 1 (riesgo individual y poblacional escaso o nulo). Gérmenes que presentan escasas probabilidades de producir enfermedades en las personas o los animales.
- Grupo de riesgo 2 (riesgo individual moderado, riesgo poblacional bajo). Agentes patógenos que pueden provocar enfermedades humanas o animales, exhibiendo bajas probabilidades de representar un riesgo grave para las personas que los manipulan, la población general, los animales o el ambiente. La exposición laboral puede provocar infecciones graves, pero sus posibilidades de propagación son limitadas por la existencia de medidas profilácticas y reactivas eficientes.
- Grupo de riesgo 3 (riesgo individual elevado, riesgo poblacional bajo). Microorganismos que suelen provocar enfermedades graves en humanos o animales. Pero que la transmisión es de un individuo a otro individuo. También poseen medidas profilácticas y de atención eficientes.
- Grupo de riesgo 4 (riesgo individual y poblacional elevado) Microorganismos que pueden provocar enfermedades graves en las personas o animales, que se transmiten de individuo a individuo, de manera directa o de forma indirecta, pero no existen medidas profilácticas y reactivas eficientes.

La Tabla 1 muestra la clasificación de los laboratorios según el nivel de riesgos, y describe las normas que ameritan según el nivel:

**Tabla 1.** Niveles según las tareas que se realizan y los riesgos biológicos que se manejan (1)

Grupo de riesgo	Nivel de bioseguridad	Tipo de laboratorio	Prácticas de laboratorio	Equipo de seguridad
1	Básico Nivel 1	Enseñanza básica, investigación	TMA	Ninguno, trabajo en mesa de laboratorio al descubierto
2	Básico Nivel 2	Servicios de atención primaria, diagnóstico, investigación	TMA y ropa protectora; señal de riesgo biológico	Trabajo en mesa al descubierto y CSB para posibles aerosoles
3	Básico Nivel 3	Diagnóstico especial, investigación	Prácticas de nivel 2 más ropa especial, acceso controlado y flujo direccional del aire	CBS además de otros medios de contención primaria para todas las actividades
4	Básico Nivel 4	Unidades de patógenos peligrosos	Prácticas de nivel 3 más cámara de entrada con cierre hermético, salida con ducha y eliminación especial de residuos	CBS de clase III o trajes presurizados junto con CBS de clase II, autoclave de doble puerta (a través de la pared), aire filtrado

**Donde:**

TMA: técnicas microbiológicas apropiadas según parte IV de Manual de Bioseguridad en el Laboratorio)

CSB: Cámara de Seguridad Biológica

**Fuente:** OMS, 2005.

Según lo que se puede observar en esta Tabla, un laboratorio de Bioquímica clínica estaría situado en el Nivel 2, es decir, un laboratorio que presta servicios de atención primaria a una población amplia, con fines de diagnóstico.

## BIOQUÍMICA CLÍNICA PARA CIENCIAS DE LA SALUD

Este manual de la OMS también advierte que, en algunos casos, dependiendo del tipo de muestra con el que se esté trabajando (Ej.: muestra de pacientes infectados con patógenos del tipo 3), de los procedimientos que se hayan de aplicar (Ej. producción de gotículas o aerosoles con muestras de las que se presume contienen una concentración de patógenos importantes), se deben emplear normativas para laboratorios del Nivel 3.

A continuación, se presenta la Tabla 2, que contiene de manera resumida, el manejo de los dispositivos de seguridad en laboratorio, según el nivel de riesgo:

**Tabla 2.** Síntesis de condiciones de bioseguridad en laboratorios de bioquímica clínica (1)

	Nivel de bioseguridad			
	1	2	3	4
Aislamiento del laboratorio <sup>1</sup>	No	No	Sí	Sí
Sala que pueda precintarse para ser descontaminada	No	No	Sí	Sí
Ventilación:				
- Flujo de aire hacia el exterior	No	Conveniente	Sí	Sí
- Sistema de ventilación controlada	No	Conveniente	Sí	Sí
- Salida de aire con filtros HEPA	No	No	Sí/No <sup>2</sup>	Sí
Entrada de doble puerta	No	No	Sí	Sí
Cámara de cierre hermético	No	No	No	Sí
Cámara de cierre hermético con ducha	No	No	No	Sí
Antesala	No	No	Sí	-
Antesala con ducha	No	No	Sí/No <sup>3</sup>	No
Tratamiento de efluentes	No	No	Sí/No <sup>3</sup>	Sí
Autoclave:				
- En el local	No	Conveniente	Sí	Sí
- En la sala de trabajo	No	No	Conveniente	Sí
- De doble puerta	No	No	Conveniente	Sí
CBS	No	Conveniente	Sí	Sí
Capacidad de vigilancia de la seguridad del personal <sup>4</sup>	No	No	Conveniente	Sí



- 1 Aislamiento ambiental y funcional respecto del tráfico general
  - 2 Según la localización de la salida de aire
  - 3 Según cuáles sean los agentes empleados en el laboratorio
  - 4 Por ejemplo, en ventana, sistema de televisión en circuito cerrado, comunicación en dos sentidos
- HEPA: filtración de partículas aéreas de gran eficiencia (High-Efficiency Particulate Air)

**Fuente:** OMS, 2005

Este manual de bioseguridad en laboratorio, la OMS ofrece directivas de seguridad según los tipos de laboratorio que van desde el diseño de espacio físico hasta los primeros auxilios en casos de accidentes y contingencias, pasando por todo lo concerniente a la evaluación de riesgos, los equipos de protección personal, la desinfección y esterilización, el transporte, almacenamiento y desecho de materiales peligrosos, la formación y capacitación del personal en relación a la seguridad en el trabajo.

La OMS articula estas directrices con otras normativas más precisas en otros aspectos del trabajo en laboratorio, de equipos de laboratorio, bajo la premisa de que el buen mantenimiento de los equipos, reduce ampliamente no solo los factores de riesgo químicos y biológicos, sino también los factores de riesgo eléctricos, mecánicos y físicos.



### Bioseguridad en laboratorios de los niveles 1 y 2



**Fotografía 2.** Los estudiantes que no tienen guantes corresponden al nivel 1 de Enseñanza básica, aquí ellos solo ingresan los datos al equipo donde se procesaran las muestras para ser analizados los diferentes analitos. Mientras que los que usan guantes son los que procesan las muestras. Estudiantes: Paula Hoyos, Esteban Amador, Anita Macias, Daniela Garcia, Maria de los Angeles Fernandes, Diego Zambrano, Martha Calvas, Heydi Estrada y Diana Orellana de izquierda a derecha.

Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio “Dayana”

Las recomendaciones ofrecidas aquí constituyen los procedimientos mínimos para cualquier laboratorio de cualquiera de los niveles de riesgo. Algunas de ellas pueden lucir como no necesarias, para algunos organismos del grupo de riesgo 1, pero son apropiadas para la formación del personal, con el fin de propiciar el uso de técnicas seguras para cualquier contingencia. Todo laboratorio de bioquímica clínica debe procurar cumplir, al menos, las recomendaciones de bioseguridad para el nivel 2, ya que ningún laboratorio puede garantizar el control nece-

sario para las muestras con que trabaja. Algunos países exigen que los laboratorios clínicos se acrediten bajo la normativa internacional así de la OMS como también bajos sus normas nacionales y locales.

Las directrices emanadas del Manual de Bioseguridad en Laboratorio de la OMS son más detalladas, por lo que se recomienda al personal del laboratorio tener dicho manual como libro de cabecera para su aplicación eficiente. A continuación se presenta un resumen de recomendaciones mínimas que se deben conocer.

### **Protocolos de trabajo o Códigos de prácticas**

Se trata de una enumeración, por escrito, de los procedimientos de los laboratorios básicos. Estos protocolos o codificación de las técnicas, puede emplearse con el fin de elaborar una guía escrita para que todos los trabajadores manejen criterios de seguridad universales y unificados.

### **Acceso a los laboratorios**

1. Siempre debe colocarse el símbolo internacional de peligro biológico en todas las puertas de acceso al laboratorio.
2. Únicamente podrá ingresar a las áreas de trabajo el personal autorizado.
3. Las puertas de los espacios del laboratorio deben mantenerse cerradas.
4. Debe prohibirse la entrada de niños en las zonas de trabajo del laboratorio, exceptuando el área de recolección de muestra, donde el niño deberá permanecer sólo el tiempo necesario para este fin.
5. Debe prohibirse la entrada de animales a las áreas de trabajo, excepto al área de recolección de muestra si se trata de un laboratorio de bioquímica para fines veterinarios o de investigación.



### Protección personal



**Fotografía 3.** Se muestra la vestimenta que debe de tener como protección. Cada personal que trabaje en el Laboratorio Clínico. Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio “Dayana”

1. Todo el personal del laboratorio deberá lavarse las manos siguiendo las medidas de lavado de manos de la OMS antes de empezar y al finalizar la jornada.
2. Usar el mandil que debe ser largo y con mangas largas dentro del laboratorio.
3. Debe usarse guantes para cada procedimiento que implique contacto con fluidos corporales y otros materiales para evitar contagio.
4. Siempre que sea necesario, debe usarse gafas de seguridad u otros dispositivos que puedan proteger los ojos o la cara.
5. No deben usarse los equipos de protección personal fuera del laboratorio.
6. El calzado de todo el personal siempre debe ser cerrado.
7. Debe prohibirse comer, fumar, beber, maquillarse e incluso colocarse lentes de contacto, dentro de las áreas del laboratorio.
8. No guardar alimentos y bebidas para consumo humano en las



áreas de trabajo.

9. La vestimenta de seguridad no debe guardarse junto con el vestuario doméstico.

### **Procedimientos**

1. Nunca se debe pipetear usando la boca. Se usa auxiliares como las peras de caucho, dispositivos como las pipetas automáticas o los dispensadores.
2. Debe evitarse colocar material alguno, ni los dedos en la boca, dentro del área de laboratorio.
3. Todo procedimiento se ejecutará de forma tal que se minimice la producción de aerosoles.
4. Las jeringas y agujas hipodérmicas deben ser descartadas en guardianes rojos y corto-punzantes.
5. Todo accidente e incidente de trabajo debe reportarse inmediatamente por medio de un registro escrito.
6. Debe elaborarse un protocolo de trabajo para el tratamiento de los derrames y limpieza de estos.
7. Los fluidos contaminantes serán descontaminados por los procedimientos establecidos antes de ser descartados por el recolector de salubridad.
8. Cualquier documento que surgiera en el interior del laboratorio, si ha de salir de éste, debe estar exento de contaminación.

### **Áreas de trabajo**

1. Debe mantenerse el orden y limpieza en todo momento.
2. Todas las superficies deben descontaminarse al final de cada jornada de trabajo, e inmediatamente de cualquier derrame.
3. Todo material contaminado deberá ser descartado en sus respectivos guardianes.
4. Si hubiere ventanas que necesariamente deban mantenerse abiertas, éstas deberán contar con una malla protectora contra la entrada de bichos.





### **Gestión de la bioseguridad**

La vigilancia de la bioseguridad debe ser responsabilidad de todo el personal que labora en el laboratorio, quién debe estar formado adecuadamente para tal fin, lo cual implica que estarán al corriente de los riesgos y condiciones peligrosas presentes en el espacio laboral.

### **Diseño e instalaciones del laboratorio**

Previo a la apertura de un laboratorio de bioquímica clínica debe desarrollarse un diseño que contemple la minimización de las condiciones peligrosas que estarán presentes al momento de estar funcionando, que involucren todos los factores de riesgo conocidos, para esto, el arquitecto y el ingeniero deberán acudir a la normativa internacional, nacional y local respecto al tema de la higiene y seguridad en el trabajo.

### **Características de diseño**

1. Según la OMS dispone que el espacio debe ser suficiente, según el Instituto de Educación Superior la normativa para el espacio recomendado es de 60 m<sup>2</sup>.
2. Paredes, techos y suelos deberán ser lisos, impermeables frente a los fluidos, resistentes a la corrosión.
3. La iluminación debe ser adecuada.
4. Mobiliario adecuado y cómodo.
5. Presencia de pequeños almacenes para los artículos de uso frecuente y espacios más grandes, adecuados, para el material de uso no mediato.
6. El personal debe contar con un espacio para guardar su ropaje y otros objetos personales.
7. Buenas fuentes de agua para la limpieza y para emergencias.
8. Debe haber un área para la descontaminación del material de trabajo.
9. Presencia de medios de protección contra incendios y emergencias eléctricas.
10. Área para primeros auxilios.
11. Sistema de ventilación eficiente.

### **Material de bioseguridad indispensable**

1. Pipetas automáticas de diferentes volúmenes, Pipetas de Pasteur y dispensadores.
2. Cámaras o Campanas de Seguridad Biológicas.
3. Fiolas, balones, vasos de precipitado, agitadores de vidrios y magnéticos, vidrios de reloj, espátulas y tubos de ensayo con sus tapones.
4. Centrifuga, equipo para el análisis de pruebas bioquímicas, Contador Hematológico, homogenizador de tubos, estufas o cámaras de luz UV, para esterilizar el material contaminado.

### **Vigilancia médica y sanitaria**

La autoridad empleadora del laboratorio, junto con los comités de seguridad, debe establecer protocolos de vigilancia epidemiológica y sanitaria, desarrollando las siguientes actividades:

1. Vacunación del personal.
2. Detección precoz de enfermedades profesionales.
3. Garantizar los equipos y procedimientos de protección personal.

### **Capacitación**

La capacitación del personal, respecto a los procedimientos de minimización de riesgos, así como de las técnicas de laboratorio, garantizará la seguridad y salud del personal. Es competencia de las autoridades sostener un programa continuo y actualizado en esta área, pero es competencia del comité de seguridad en el trabajo, garantizar la concurrencia de todo el personal a tales capacitaciones.

Algunos de los riesgos que deben considerarse en esta formación son:

1. Riesgo de inhalación e ingestión de muestras debido a la producción de aerosoles debido a la forma de pipetear, de abrir recipientes como los tubos de ensayo, la forma de centrifugar, etcétera.
2. Riesgo de pinchazos al manipular jeringas y agujas, por técni-



- cas inadecuadas de uso y descarte.
3. Manejo de la sangre y demás materiales potencialmente patológicos.
  4. Descarte y esterilización de materiales contaminados.

### **Manipulación de desechos**

Se considera un principio cardinal, en un laboratorio, que todo el material infeccioso debe ser descontaminado y esterilizado en autoclave o incinerado dentro de las instalaciones del mismo.

Es importante que el personal de limpieza y descontaminación esté calificadamente formado para tales fines en el medio específico de laboratorio.

Procedimientos de manipulación y eliminación de material y desechos contaminados.

### **Identificación y separación de los diferentes materiales de desechos obtenidos**

1. Desechos no contaminados.
2. Objetos corto-punzantes.
3. Material para ser esterilizado en autoclave.
4. Material para ser eliminado por métodos distintos a la incineración.
5. Material para ser incinerado.

### **Materiales cortantes y punzantes**

A las agujas no se vuelve a colocar su capuchón, se descartarán inmediatamente después de usarse en los guardianes corto punzante.

### **Material para ser eliminado o incinerado**

Todo material contaminado debe ser introducido en envases herméticos, llevado a la autoclave y posteriormente ser eliminado o incinerado.

Deben seguirse las normas de codificación por color de clasificación del material, según rige la legislación nacional o local. Después de esterilizarse mediante la autoclave, el material puede ser transportado hacia los espacios donde habrán de incinerarse.

El material reusable que se emplea, deberá ser lavado y secado luego llevado al esterilizador para su descontaminación y posterior uso.

Los materiales líquidos podrán eliminarse por el drenaje siempre que sean hidrosolubles, y se tenga la seguridad de que es un sistema de drenaje propio que cumple con las normas para desechos de laboratorio. De lo contrario, deberán almacenarse en envases herméticos y ser almacenados o descartados bajo las normas para el material peligroso según su ficha toxicológica.

### **Riesgos químicos, eléctricos y de incendios**

Sea cual fuere el nivel del laboratorio, las medidas contra riesgos químicos, eléctricos y de incendios deben ser las mismas.

1. Contar con sistemas automáticos o accesibles (si son manuales) de control de la electricidad.
2. Contar con los extintores contra incendios apropiados a las posibles fuentes de incendio del laboratorio.
3. Salidas de emergencia señalizadas y de fácil acceso.
4. Sistema de duchas de emergencia para diluir el contacto de químicos sobre el cuerpo.
5. Sistema eléctrico en buen estado.

En este libro se resume las directrices mínimas que la OMS propone para los laboratorios, pero es importante recordar que el Manual de Bioseguridad en Laboratorio expone más detallada y ampliamente estas recomendaciones, por lo que aquí se expone debe considerarse una guía general que debe remitirse al manual de la OMS si se quiere consolidar un sistema de seguridad efectivo.



### Recolección de Muestras



**Fotografía 4.** Muestras recolectadas para la realización de los exámenes. Tubo tapa morada: EDTA, tapa verde heparina, tapa gris fluoruro. Reposan sobre el agitador automático hasta terminar la recolección y proceder a la realización del exame.

Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio “Dayana”

En un laboratorio de bioquímica clínica, la muestra más comúnmente utilizada es el suero, seguido del plasma, la sangre completa, el líquido cefalorraquídeo, la orina y las heces fecales.

### Sangre completa

Es un fluido corporal que cumple funciones de transporte de diferentes sustancias, nutrientes y células, en todos los tejidos del cuerpo. Está compuesta principalmente por agua, solutos (electrolitos, sales, etc.), proteínas (albúmina, inmunoglobulinas, etc.) y elementos formes como los glóbulos blancos, los glóbulos rojos y plaquetas (2,3).



**Fotografía 5.** Tubo tapa morada con aditivo EDTA (etilen diamino tetraacético). Nos permite mantener la muestra sin que se cuagule para poder realizar: el conteo de glóbulos rojos, blancos, plaquetas, fórmula leucocitaria; hemoglobina glicosilada, etc.

Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio “Dayana”

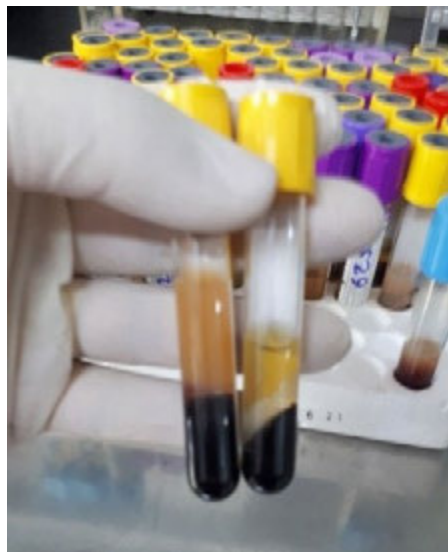
En condiciones naturales la sangre tiene la propiedad de coagular una vez que sale del cuerpo a través de heridas, con el fin de propiciar la formación de un coágulo formando un tapón que impida los derrames o salidas excesivas de sangre. Este tapón, se forma aproximadamente de 10-15 segundos del contacto entre la sangre y el aire y es formado por un complejo sistema llamado cascada de coagulación. En condiciones de laboratorio, se consigue impedir el proceso de coagulación incorporando, en la sangre extraída mediante una venopunción, una sustancia líquida o liofilizada llamada anticoagulante (2,3).

Estos anticoagulantes se añaden a los tubos donde se recolecta la sangre, y cada anticoagulante se reconoce por el color de los tapones del tubo.

Algunas pruebas bioquímicas realizadas con anticoagulantes son: Hemoglobina, Hemoglobina Glicosilada, fibrinógeno, entre otras. La sangre completa puede permanecer viable al menos 24 horas en refrigeración (2,3).



### Suero



**Fotografía 6.** El tubo tapa amarilla al vacío con gel separador nos permite separar el líquido sobrenadante de elementos figurados de la sangre, a este líquido sobrenadante le llamamos suero, se usa en las pruebas bioquímicas como glucosa, colesterol, triglicéridos, urea, creatinina, bilirrubina, transaminasa, ácido urico etc.

Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio “Dayana”

El suero, es la muestra por excelencia para el laboratorio de Bioquímica Clínica, con ella se desarrollan casi el 80 % de las pruebas. Es un componente líquido de la sangre al que se le ha separado de los elementos figurados quedando retenidos en el coágulo.

El proceso de coagulación consiste en la producción de un conglomerado de células, unidos por lo que se conoce como red de fibrina. En condiciones naturales, la sangre carece de fibrina, ya que ésta se encuentra en estado de fibrinógeno. El paso de fibrinógeno a fibrina se produce en el contacto de la sangre con el aire o cualquier superficie distinta a las del organismo (Ej. vidrio o plástico de los tubos de ensayo), por procesos fisicoquímicos complejos. Dentro del organismo, estos procesos se activan con la ruptura interna de vasos sanguíneos, produciendo pequeños coágulos para reparar la ruptura del vaso.

Al producirse la coagulación en un tubo de ensayo (in vitro), al cabo de 20-30 minutos de reposo a temperatura ambiente, pueden verse, macroscópicamente, tres componentes: uno de color marrón rojizo, que es el coágulo propiamente dicho (serie roja), también conocido como taco, que se deposita al fondo del tubo. Encima del taco, se puede apreciar un pequeño disco blanco (serie blanca), compuesto por glóbulos blancos, denominado "capa blanca". Adyacente o encima de la capa blanca se puede apreciar, una sustancia líquida, normalmente cristalina, de color amarillo, que es el suero (2,3).

Para obtener un suero óptimo para el análisis bioquímico, es necesario centrifugar la muestra de sangre al cabo de 30 minutos de reposo, de manera vertical, a 25° C. Luego de la centrifugación, se introduce el tubo en el lector de bioquímica si se trabaja de manera automatizada, o se separa el suero si se trabaja de manera manual.

Para la mayoría de las pruebas, el suero separado puede permanecer viable 24 horas entre 0 y 8° C, y por semanas o meses en congelación a -20°C. No es recomendable congelaciones y descongelaciones consecutivas, ya que esto produce la degradación de las proteínas.

Un suero de calidad analítica se obtiene cuando el paciente se encuentra en estado de ayuno, pues se evita la turbidez producida por la ingesta de lípidos que puede ser un importante interferente. La lipemia se reconoce porque el suero se muestra desde ligeramente turbio hasta un aspecto lechoso nada transparente (2,3).

### **Plasma**

Es la porción líquida de la sangre cuando se ha utilizado un aditivo llamado anticoagulante razón por la cual no se coagula. Es decir, contiene fibrinógeno en lugar de fibrina. Se obtiene por centrifugación de la sangre completa, y es la parte líquida, amarilla y translúcida que queda por encima del paquete celular que la centrifugación depositó al fondo del tubo (2,3).



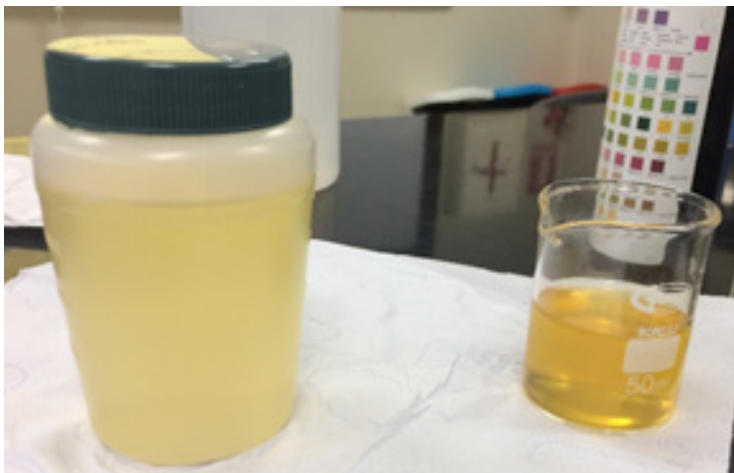
## BIOQUÍMICA CLÍNICA PARA CIENCIAS DE LA SALUD

En bioquímica el plasma puede ser un sustituto del suero, cuando éste no se obtenga de buena calidad analítica. Sin embargo, existen muchas pruebas que no pueden hacerse con plasma, por un alto contenido proteico, que puede resultar interferente.

### Líquido cefalorraquídeo (LCR)

El líquido cefalorraquídeo es un líquido incoloro y transparente que cubre el encéfalo y circula por el sistema nervioso central que se produce en los ventrículos cerebrales. Se obtiene por una punción lumbar, que suelen realizar médicos especializados. Su análisis en un laboratorio de bioquímica es útil para el estudio de las meningitis, marcadores tumorales y ciertas intoxicaciones. Se recolecta en un tubo de plástico o vidrio específico para esta muestra. En bioquímica clínica es muy frecuente evaluar los niveles de glucosa y proteínas en LCR (3).

### Orina



**Fotografía 7.** Muestra de orina para las pruebas físicas, químicas y sedimento recolectadas en la mañana.

Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio “Dayana”

Es un líquido ligeramente amarillo que se produce por un ultrafiltrado de la sangre al pasar por los riñones. En condiciones normales se obtiene mediante la micción. En condiciones patológicas se obtiene mediante una sonda uretral (3).

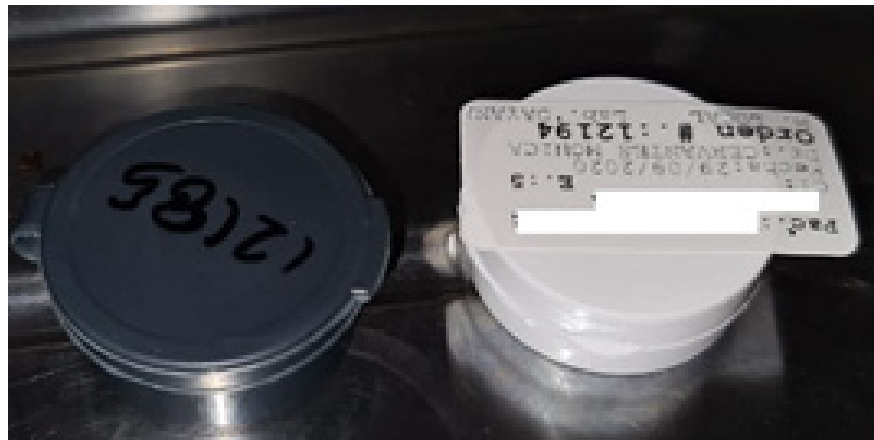
Las pruebas físicas y químicas que se realizan en la orina sin centrifugar son: aspecto, color, densidad, pH, y con tiras reactivas: proteínas, glucosa, cetonas, sangre, pigmentos biliares, urobilinógeno y nitritos, este examen es un procedimiento simple y rápido.

Para las mediciones bioquímicas, se recomienda que la orina se centrifugue y sea desprovista de la porción celular separando el sobrenadante con el que se trabajará.

Las pruebas bioquímicas más comunes, realizadas con la orina, en un laboratorio clínico son: proteínas, electrolitos, calcio, fósforo, y ácido úrico. En orina también se puede determinar la presencia de drogas ilegales como cocaína, marihuana, opiáceos, anfetaminas, y así como medicamentos, entre otros.

Las pruebas en orina pueden realizarse con orinas parciales en ayunas, con orinas parciales postprandiales, o con orinas de 24 horas de recolección.

### Heces fecales



**Fotografía 8.** Muestra de heces para realizar el examen parasitológico, citología fecal, *Helicobacter pylori*, etc.

Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio “Dayana”

## BIOQUÍMICA CLÍNICA PARA CIENCIAS DE LA SALUD

Las heces fecales son productos de degradación de los alimentos, pero contienen también sustancias de desecho del metabolismo como la bilirrubina, entre otros. Son pocas las pruebas realizadas desde la bioquímica en las heces, algunas se relacionan con el pH, azúcares reductoras y con su contenido de grasa. Otra prueba bioquímica frecuente es la prueba rápida de sangre oculta en heces y si hay o no la presencia de parásitos.

El médico explicará al paciente cómo realizar la recolección de las heces, esta dependerá del examen a realizar que debe ser en un envase estéril y tomar de diferentes partes del total expulsado y llevarla al laboratorio con pocas horas de haber sido deyectadas.

### Punción venosa



**Fotografía 9.** Punción Venosa para obtener el plasma o suero usadas en pruebas de Bioquímica.

Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio “Dayana”

La recolección de la muestra es el punto de partida del trabajo del bioquímico clínico. Esta se realiza mediante la punción venosa (venopun-

ción) y debe intentar hacerse de manera rápida, eficaz, y con el menor trauma posible, no sólo para evitar el dolor excesivo al paciente, sino también para evitar la hemólisis (ruptura masiva de glóbulos rojos), considerado el principal y más común factor de interferencia para las pruebas bioquímicas.

### **Equipos básicos para realizar una punción venosa**

1. Algodón estéril, en forma de motas para su fácil manipulación.
2. Alcohol isopropílico, para humedecer las motas de algodón con el fin de limpiar la zona de la punción.
3. Torniquete es una cinta elástica que se coloca entre 5 y 10 centímetros en dirección proximal, respecto al sitio donde se prevé hacer la punción. Tiene la función de obliterar la vena que habrá de pincharse para que esta se hinche haciéndose más accesible a la vista y a la palpación, adicionalmente produce un aumento de la presión de ese vaso, facilitando la salida de la sangre hacia la aguja. Una vez hecha la punción, el torniquete debe retirarse.
4. Gradilla para el reposo de los tubos de ensayo. La gradilla es un dispositivo de plástico, metal o alambre hecha para depositar tubos de ensayo. Las hay de diferentes calibres, por lo que es importante tener una donde los tubos quepan exactamente, para que se mantengan verticalmente y no se salgan de la gradilla al hacer cualquier movimiento.
5. Tubos de ensayo específicos para el tipo de muestra. Los tubos de ensayo vienen de diferentes diámetros y longitudes. Los hay de vidrio y de plástico. La mayoría de los tubos con anticoagulante, poseen un baño de silicón en las paredes interiores para evitar la coagulación antes de tener contacto con el aditivo.

A continuación, algunos tubos empleados de manera frecuente en los laboratorios de bioquímica clínica:

- Tubos con tapón color violeta: Contienen el anticoagulante llamado ácido etilendiaminotetraacético (E.D.T.A.) por sus siglas



- en inglés. Ideales para realizar Hemogramas y obtener plasma.
- Tubos con tapón verde: contienen el anticoagulante llamado Heparina. Ideales para realizar hemogramas, pruebas de metales pesados en sangre, entre otras. También se obtiene un buen plasma.
  - Tubos con tapa gris: contiene fluoruro de sodio, un compuesto anticoagulante que permite tomar muestras para las pruebas relacionadas con la glucosa sin que esta se consuma por la glicólisis llevada a cabo por los eritrocitos ya que inhibe las reacciones enzimáticas.
  - Tubos con tapón azul: contienen el anticoagulante citrato de sodio, ideal para pruebas de coagulación.
  - Tubos con tapón rojo no contienen aditivo por lo que se deben manipular con mucho cuidado.
  - Tubos con tapón negro: contiene un agente que promueve la coagulación y, además, un gel para la separación del suero.
  - Tubo con tapón amarillo que no contiene anticoagulante, pero si un gel que separa los elementos figurados del líquido sobrenadante para su fácil manipulación.
6. Jeringas o Sistema de extracción por tubos al vacío. Las jeringas deben ser estériles y desechables. El sistema de extracción de sangre por tubos al vacío, es una técnica que ha ido desplazando a las jeringas, ya que minimiza el riesgo de pinchazo, y reduce la cantidad de desechos, pues en este sistema sólo se descarta la aguja.

Este sistema consiste en una camisa donde se enrosca una aguja de doble punta (una para el tubo y otra para la venopunción) y una vez que se ha hecho la punción venosa, el otro lado de aguja se inserta en la tapa de goma del tubo al vacío, provocando que la sangre salga, rápidamente, por gradiente de presión. Al llenarse el tubo, éste se saca de la camisa, y la aguja se descarta directamente en un envase adecuado, que viene provisto de una ranura para desenroscar las agujas de la camisa.



7. Guardián corto punzante. Son recolectores de plástico fuerte, especialmente diseñados para descartar objetos corto punzante, especialmente agujas hipodérmicas lancetas, bisturís y otras herramientas que cortan o penetran en la piel. Tienen una etiqueta que señala el riesgo biológico y una vez que se llenan y se cierran, quedan herméticamente cerrados y no se pueden volver a abrir.
8. Venda adhesiva, para colocarla en el punto de la punción.
9. Marcadores para rotulación de tubos. Los tubos suelen tener una doble etiqueta, una grande fuertemente pegada al tubo, con las indicaciones del tipo de tubo, y un espacio en blanco para escribir el código del paciente.

### **Condiciones de la toma de muestra de sangre venosa (2)**

1. Ayuno. Para la mayoría de los exámenes de bioquímica clínica de tipo preventivos, se exige que el paciente se encuentre en condición de ayuno de entre 8 a 12 horas. Los exámenes de emergencia, no requieren ayuno, pero esto debe señalarse al médico para que considere los interferentes que produce el consumo de alimentos.
2. Comodidad. Tanto el paciente como el operador deben estar situados en un lugar cómodo, con buena iluminación y todos los implementos a la mano.
3. Puesto de extracción de muestra. El paciente debe estar sentado en una silla o mesa donde este cómodo para la toma de muestra, generalmente son muebles que cuentan con un posa-brazos para la extracción. Si se trata de un bebé, es preferible que esté en posición decúbito supino. Los puestos de extracción de muestra suelen tener, a la mano, todos los implementos y accesorios necesarios para una venopunción segura y efectiva.
4. El operador debe usar guantes. Si bien es cierto que los guantes elásticos no necesariamente son una garantía contra los pinchazos, constituyen una primera barrera de protección que puede reducir la carga de microorganismos potencialmente dañinos.



### **Procedimiento para la punción venosa**

1. Verificar la orden de exámenes, los datos del paciente, nombres completos, fecha de nacimiento, cédula de identidad, teléfono, edad, y el Dr. Tratante.
2. Las pruebas solicitadas para prever qué tipo de tubos habrán de usarse y la cantidad de sangre por extraer.
3. Identificar el o los tubos adecuadamente, verificando que la codificación corresponda correctamente a cada paciente, esta se realiza por orden de llegada.
4. Informar al paciente de los procedimientos que se van a realizar y verificar su consentimiento.
5. Seleccionar el brazo con venas visibles y accesibles. Se puede extraer sangre de cualquier vena superficial, no obstante, las venas de preferencia son la basal, media o cefálica del área antecubital.
6. Verificar que la jeringa y el sistema de tubos al vacío estén en óptimas condiciones de uso (esterilidad y buen estado). Cuando se use jeringa es importante mover el émbolo adelante y atrás, para facilitar su movimiento cuando reciba la sangre.
7. Seleccionar la vena a canalizar mediante palpación. Normalmente las punciones se hacen con agujas calibre 21, pero si se trata de venas de difícil punción, se recomienda una aguja de un calibre 23. No debe extraerse sangre de una vena por donde se esté suministrando un medicamento o haya sido utilizada con ese fin en las 24 horas anteriores a la venopunción.
8. Limpiar la zona de la piel donde se encuentre la vena seleccionada para la punción con una mota de algodón previamente humedecida con alcohol etílico o un agente bacteriostático.
9. Colocar el torniquete.
10. Pedir al paciente que cierre el puño con una fuerza leve.
11. Se pincha al paciente cuidando que el bisel de la aguja se dirija hacia arriba. La aguja debe tener un ángulo aproximado de 15° respecto de la piel. Para extraer la sangre, solo es necesario que se introduzca 1 cm de la aguja.



12. Se inicia la extracción de sangre, de manera pasiva, si se trata del sistema de tubos al vacío o de manera activa, si se trata de una jeringa. En el caso de la jeringa, debe cuidarse de sostenerla firmemente para que no se salga la aguja cuando se tire del émbolo.
13. A los pocos segundos de ver salir la sangre, debe retirarse el torniquete, y pedir al paciente que abra la mano.
14. Si se está empleando tubos al vacío, debe cuidarse que la aguja no se salga al cambiar de un tubo a otro si fuera el caso.
15. Se retira la aguja de la punción, no sin antes haber colocado suavemente una mota de algodón o gasa, estériles, en el punto de inserción de la aguja. Una vez retirada la aguja, se le pide al paciente doblar el brazo por unos segundos.
16. Se transfiere la sangre de la jeringa a los tubos apropiados. Recordando hacer girar levemente, dos o tres veces, la sangre vertida en los tubos con anticoagulantes. Por el contrario, los tubos sin anticoagulantes deben permanecer en la gradilla.
17. Retirar la mota de algodón o gasa del brazo del paciente, y colocar la banda plegable sobre el punto del pinchazo para evitar la salida definitiva de sangre hasta su coagulación.

### **Criterios para rechazo de muestras (2)**

1. Identificación inadecuada. Debe haber una concordancia absoluta entre los datos de la orden de exámenes, la identificación del paciente y los datos que se coloquen en los tubos de muestras, cualquier disparidad puede causar errores fatales.
2. Coagulación de muestras que no deberían estar coaguladas. Esto suele suceder cuando los tubos de ensayo alcanzaron su fecha de caducidad y aun así fueron usados, cuando no se agitó a tiempo la muestra al ser vertida en el tubo.
3. Empleo de los Tubos inadecuados. El suero es el tipo de muestra más recomendada para los análisis de bioquímica sanguínea. Los tubos con EDTA, fluoruro de sodio, citrato de sodio, no son apropiados para los otros procedimientos. Quelantes, como





el EDTA pueden afectar algunas pruebas enzimáticas.

4. Hemólisis. La hemólisis es el proceso de ruptura masiva de los glóbulos rojos, lo cual trae como consecuencia que el suero o plasma pierdan su limpidez y se tornen turbios y oscuros. Esto deviene en interferencias en la mayoría de las pruebas de carácter colorimétrico.
5. Tiempo preanalítico permitido. La mayoría de los analitos exhibe un tiempo máximo de viabilidad, donde realizar una prueba para determinarlo, es permisible considerarse válida. No se pueden aceptar muestras que excedan ese tiempo.

### **Sustancias interferentes**

Las sustancias interferentes para las diferentes pruebas de química sanguínea, pueden ser muy diversas. Es necesario que el operador conozca los interferentes específicos para cada prueba, lo cual se puede hallar fácilmente en los insertos que ofrecen las casas comerciales junto con los reactivos.

Sin embargo, hay sustancias que cuando se presentan en altas concentraciones en suero, pueden ser interferentes en la mayoría de las pruebas bioquímicas. Tal es el caso de la Hemoglobina, la Bilirrubina y las grasas. En los tres casos, cuando se encuentran en altas concentraciones (por hemólisis en el caso de la hemoglobina, o por falta de ayuno, en el caso de las grasas), se afecta a las lecturas colorimétricas de las pruebas. Sin embargo, existen métodos (como el de la dilución de la muestra o el uso de blanco muestra) para corregir las interferencias de estos compuestos cuando su concentración es de normal a moderadamente elevada.

### **Estabilidad y almacenamiento de muestras biológicas**

La estabilidad de las muestras biológicas es un factor importante para poder obtener resultados de alta calidad. Y ésta dependerá de la manera y el lugar donde las muestras se almacenen después de haber sido tomadas.

### **Temperaturas para almacenar muestras biológicas**

Almacenamiento a temperatura ambiente (15°C/25°C). Se considera temperatura ambiente aquella provista por los acondicionadores de aire de los laboratorios en condiciones normales, las cuales suelen estar entre 15 y 25 grados centígrados. Hay que recordar que estas temperaturas son una medida de contención bacteriostática, además de reducir la evaporación de sustancias químicas volátiles; por lo que no se recomienda que un laboratorio de bioquímica trabaje a temperaturas mayores a 25°C.

Por lo general las muestras que se almacenan a temperatura ambiente son aquellas que serán procesadas, el mismo día. De no ser así, las muestras deberán tener ciertas condiciones técnicas por Ej. Guardar en congelación a -20°C para su posterior análisis.

- Muestras liofilizadas.
- Muestras con preservantes que permitan su estabilidad a temperatura ambiente.
- Fluidos biológicos durante cortos periodos de tiempo desde su obtención (2-4h).

Refrigeración (4°C - 8°C). La temperatura de refrigeración es la forma más común para almacenar las muestras biológicas, ofreciendo, para el suero y el plasma, una viabilidad de hasta una semana para muchas pruebas bioquímicas.

Congelación (-20°C). La congelación resulta el almacenamiento ideal para las muestras de suero y plasma si se desea procesarlas en un tiempo prolongado. Es importante recordar que la viabilidad de la muestra se pierde con proceso de congelamiento y descongelamiento repetidos.

En un laboratorio de bioquímica se pueden congelar:

- Suero y plasma hasta por 4 semanas continuas.
- Reactivos biológicos en alícuotas para utilizar en periodos cortos.

Ultracongelación (-80°C). En un laboratorio de bioquímica, la ultra congelación es un método recomendado para almacenar muestras de plasma o suero por un largo periodo, ya que a diferencia de la congelación, éste método evita la desnaturalización de las proteínas y gran parte de las moléculas biológicas, incluyendo el ADN (4).

### **Contenedores de muestras biológicas**

1. Tubos de vidrio. Pueden usarse gradillas preferiblemente cuando se almacenan líquidos a temperatura ambiente o bajo refrigeración para que estos permanezcan vertical y sean manejables sin peligro.
2. Tubos de plástico. Se pueden usar bajo cualquier temperatura, pero son especialmente recomendados para el congelamiento y la ultracongelación.
3. Viales de transporte. Los viales de plástico con tapa rosca o adherida son recomendables para el almacenamiento de las muestras líquidas, ya que abarcan poco espacio y son de fácil manipulación.

### **Almacenamiento de la orina**

Para efectos de los exámenes bioquímicos, la muestra de orina debe centrifugarse y se emplea el sobrenadante. Éste puede almacenarse en tubos o viales, bajo refrigeración o congelamiento. En condiciones de refrigeración, puede producirse una condensación de cristales disueltos en la orina, lo cual se reconoce fácilmente porque el sobrenadante, antes cristalino, se torna traslúcido. Para corregir esto, antes de realizar las pruebas bioquímicas, es necesario que la muestra reciba una incubación a 37°C hasta la desaparición de la turbidez.

### **Almacenamiento de las heces**

Para efectos de las pruebas bioquímicas, las heces pueden también almacenarse en pequeños viales, ya que de ella solo se requieren muy pequeñas porciones. Sin embargo, lo ideal es procesarla en el menor plazo posible.

# **BIOQUÍMICA CLÍNICA**

## PARA CIENCIAS DE LA SALUD

### **CAPÍTULO II**

#### GLUCOSA EN SANGRE



EDICIONES **MAWIL**



Las pruebas más importantes para el monitoreo de glucosa en sangre con fines diagnóstico son: pruebas de glucosa basal, glucosa post-prandial, curva de tolerancia oral a la glucosa y hemoglobina glicosilada.

### **Significación clínica**

La glucosa es la fuente de energía más importante en el cuerpo. La insulina, producida por los Islotes de Langerhans que se encuentran en el páncreas, facilita la entrada de la glucosa al interior de las células. Esta glucosa será metabolizada aeróbicamente para, finalmente producir 32 moléculas de Adenosina Trifosfato (ATP). Una deficiencia en la producción de insulina, o una disminución de su efectividad producto del mal funcionamiento de sus receptores en las células de los tejidos, incrementa los niveles de glucosa en sangre (glicemia).

Concentraciones elevadas de glucosa en sangre o plasma (hiperglicemia), se encuentran en la diabetes mellitus (Insulino dependiente o tipo I; y en la no insulino dependiente o tipo II); y en otras condiciones y síndromes.

La hipoglicemia puede presentarse en respuesta a un ayuno prolongado, u ocasionada por medicamentos, sustancias tóxicas, trastornos metabólicos o en sujetos con gastrectomía.

El diagnóstico clínico de la diabetes mellitus no puede hacerse con una prueba simple de glucosa en sangre, para hacerlo, deben integrarse los resultados de laboratorio con los datos clínicos.

### **Determinación de niveles de glicemia**

#### **Objetivos**

1. Propósito preventivo: A todo individuo con factores de riesgo para la diabetes mellitus, como sobrepeso (IMC > 25), síndrome metabólico y antecedentes familiares.
2. Propósito reactivo: Despistaje de hipoglicemia o hiperglicemia,

pacientes con cefalea aguda, hipertensión arterial, desvanecimiento, etc.

3. Propósito de control: Pacientes diabéticos bajo tratamiento.

### **Nombre del Método: Glucosa Oxidasa/Peroxidasa, o método de Tinder**

#### **Principio del Método**

En un primer paso la glucosa oxidasa cataliza la oxidación de la D-glucosa a ácido D-glucónico con formación de peróxido de hidrógeno. Éste es utilizado por la peroxidasa para oxidar a la 4-amino-fenazona y al fenol, dando lugar a una quinonimina coloreada. Que es directamente proporcional a su concentración y que se mide por espectrofotometría. (5)



**Fotografía 10.** Promoción: año 2017. Tercer Semestre 2018 Ordinario I. Docente Nancy Cajas Flores explicando la lectura de los resultados de la aspiración de la Muestra, de derecha a izquierda. Giorgio Sánchez Figueroa, Linda Espinoza Cabezas, Paola Herrera Cárdenas, Sonia Melo Mendoza y Nancy Cajas Flores (Docente)  
Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Médicas UEES



### ESQUEMA DE LA REACCIÓN ABREVIADO



Donde

GOD = Glucosa oxidasa

POD = Peroxidasa

4-AF = 4-aminofenazona.

### Valores de referencia

- En suero o plasma :
- Recién nacidos prematuros: 25-80 mg/dL
- Recién nacidos a término: 30-90 mg/dL
- Niños y adultos: 70 -110 mg/dL

### Glucosa postprandial

#### Significación clínica

En condiciones fisiológicas normales, el organismo es capaz de tolerar las cargas de azúcar que contienen los alimentos, independientemente de su cantidad. De este modo, gracias a la actividad pancreática con sus hormonas, insulina y glucagón; a los 120 minutos después de la ingesta de alimentos, deberían estar restituidos los valores normales de la glucosa en sangre, que se elevan justo después de comer.

La glicemia postprandial (GP) es una prueba de glucosa en sangre que realiza a los 120 minutos después de comer. La glicemia postprandial no debería exceder los 160 mg/dl. Por lo general esta prueba tiene valor diagnóstico cuando se realiza posterior a una prueba de glucosa basal en ayunas, y se comparan ambos valores.

Así, una glicemia basal igual o superior a 126 mg/dl junto con una glucemia postprandial  $\geq$  200 mg/dl transcurridas dos horas de una carga de 75 g. de glucosa anhidra disuelta en agua o equivalente, o después de un desayuno promedio. Si estos valores se presentan con una clínica de poliuria, polidipsia, hambre excesiva y pérdida de peso inexplicable, constituyen una base para diagnosticar una diabetes mellitus.

### **Prueba de Tolerancia Oral a la Glucosa**

Esta es una prueba que se realiza con tres determinaciones de glucosa en sangre, una basal y dos postprandiales, con el fin de evaluar la cinética de la glicemia. En la primera determinación el paciente debe estar en ayunas de al menos 8 horas. Se espera que los valores obtenidos no excedan de 126 mg/dL. En seguida, se le ofrece al paciente una solución líquida de glucosa (25g, 50g, o 75g). Al cabo de 60 min se hace una segunda determinación. Se esperan valores por encima de 126 mg/dL y menores a 200 mg/dL. Luego de 120 min se realiza otra determinación de glicemia y se espera que los valores no sobrepasen los 126 mg/dL. (6)

Algunos laboratorios realizan esta curva a los 30, 60 y 90 minutos, además de la prueba en ayunas. Es muy frecuente que esta curva se realice con dos puntos, la glicemia basal y la glicemia a los 120 min. Los resultados de la glicemia luego de 120 min, determina el diagnóstico de diabetes, ya que los valores normales del paciente, al cabo de ese tiempo, deberían estar restituidos. Es importante comparar los resultados de laboratorio con la clínica del paciente.

### **Diagnóstico**

Glicemia en ayunas: glucosa en ayunas mayor a 120 mg/dL en tres exámenes en días consecutivos. Los niveles entre 100 y 120 mg/dL en ayunas, son indicadores precoces de diabetes, principalmente para la diabetes tipo 2.





Prueba de tolerancia a la glucosa: se diagnostica diabetes si el nivel de glucosa es superior a 200 mg/dL luego de 2 horas de tomar una bebida azucarada (esta prueba se usa con mayor frecuencia para la diabetes tipo 2) (7).

### **Hemoglobina Glicosilada y su fracción A1c (HbA1c)**

Esta prueba es un test que a diferencia de la glucosa, se realiza con sangre completa. Es una prueba diseñada especialmente para los pacientes con diabetes tipo 2 y con síndrome metabólico. Evalúa los niveles promedio de glicemia durante los últimos tres meses, debido a que hay una porción de la glucosa que se une a la hemoglobina de los eritrocitos, cuya vida media es de ciento veinte días.

El control constante y sistemático puede prevenir el riesgo de las complicaciones tardías que suelen acompañar a la diabetes como: nefropatía, retinopatía, neuropatía, entre otras. Desde hace tiempo ha sido controversial la discusión sobre la asociación entre el desarrollo de las complicaciones microvasculares y el control de la glucosa en sangre, debido a que los métodos de medición de glucosa, antes mencionados, no tienen un carácter retrospectivo. Con la medición de la Hemoglobina Glicosilada se ha alcanzado un conocimiento exacto y objetivo del estatus de la ingesta de azúcar a plazo largo y de manera retrospectiva.

La producción de Hemoglobina Glicosilada depende de las concentraciones de glicemia. Se lleva a cabo mediante un proceso llamado glicación, donde la glucosa se liga a los grupos amino de las moléculas de hemoglobina (Hb). Según los grupos a los que se une la glucosa a los grupos terminales de la Hb, se produce una variedad de hemoglobinas glicadas, incluyendo la HbA1c, que es la especie glicosilada en el aminoácido valina N-terminal de la cadena  $\beta$  de la Hemoglobina.

Los niveles de HbA1c son proporcionales a la concentración de glucosa en sangre durante las últimas 6-8 semanas. De este modo, la

medición de la HbA1c ofrece una cuantificación para el control de la glicemia a largo plazo en pacientes diabéticos.

### **Objetivos**

1. Propósito preventivo: A todo individuo con factores de riesgo para la diabetes mellitus, como sobrepeso (IMC > 25), síndrome metabólico y antecedentes familiares.
2. Propósito reactivo: Despistaje de hipoglicemia o hiperglicemia, pacientes con cefalea aguda, hipertensión arterial, desvanecimiento, etc.
3. Propósito de control: Pacientes diabéticos bajo tratamiento.

### **Nombre del Método: Método de inhibición inmunturbidimétrica para la determinación cuantitativa de HbA1c**

#### **Principio del Método**

Se trata de un método de inhibición inmunturbidimétrica para la cuantificación de la Hemoglobina glicosilada A1c, como una proporción de la hemoglobina total en sangre completa. Mediante una hemólisis inducida por un detergente, se produce la liberación de la hemoglobina presente en los glóbulos rojos de la muestra. Posteriormente se desarrollan dos reacciones separadas, para medir Hb, por un lado y HbA1c, por el otro.

En una primera fase, la HbA1c reacciona con un anticuerpo específico contra ella, formando complejos antígeno/anticuerpo solubles. Como la HbA1c posee un solo epítipo por  $\beta$ -globina para la fijación del anticuerpo específico, no pueden formarse redes de inmunocomplejos. La adición de un polihapteno, que ofrece múltiples epítopes, se produce una reacción con el exceso de anticuerpos específicos de la primera reacción, produciendo complejos inmunes insolubles que se miden por turbidimetría. La concentración de HbA1c es inversamente proporcional a la formación de inmunocomplejos insolubles y por lo tanto, a la turbidez medible.

Por otra parte, la hemoglobina total liberada al hemolizar con la muestra, se mide espectrofotométricamente. Con un método que es capaz de detectar todas las variantes de hemoglobina glicadas en la porción N-terminal de la cadena  $\beta$ , cuya región reconocida por el anticuerpo es idéntica a la HbA1c (8).

### ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA

Anticuerpos anti-HbA1c + HbA1c  $\longrightarrow$  Complejo antígeno-anticuerpo soluble

Anticuerpos anti-HbA1c + Polihaptenos  $\longrightarrow$  C. anticuerpo-polihaptenos aglutinado

### Condiciones de la muestra

- Sangre completa con anticoagulantes obtenida con métodos estándares.
- Se recomienda el uso de heparina o EDTA.
- Deberán interpretarse con cuidado los valores de HbA1c obtenidos en aquellas patologías o situaciones que alteran la vida media de los eritrocitos, como anemias hemolíticas, anemias ferropénicas, transfusiones, pérdidas de sangre, etc.
- La muestra es estable 3 días a temperatura ambiente (15-25°C), 7 días refrigerada (2-10°C) o 6 meses congelada (-20°C). Sólo puede ser descongelada una vez.

### Valores de referencia

- Personas sanas: HbA1c: 26 – 48 mmol/mol o 4,5 - 6,5 %.
- Diabéticos No controlados:  $\geq$  53 mmol/mol o 7%.

### Diagnóstico

Niveles prolongados por encima de 6,5 % de HbA1c, en pacientes diabéticos, se asocian con el riesgo de desarrollar glaucomas, insuficiencia renal, neuropatías, entre otros. Disminuciones francas de los valores de HbA1c, indican que el paciente está llevando bien su tratamiento y control (9).

# **BIOQUÍMICA CLÍNICA**

## PARA CIENCIAS DE LA SALUD

### **CAPÍTULO III**

#### PERFIL LIPÍDICO



EDICIONES **MAWIL**

Los lípidos son ésteres o amidas de ácidos grasos, insolubles o poco solubles en agua, pero sí en solventes orgánicos (éter, cetonas, benceno, etc.).

### **Clasificación de los lípidos**

**Lípidos simples**, constituidos por carbono, hidrógeno y oxígeno formando ésteres de ácidos grasos con alcoholes de diversas estructuras, se oxidan fácilmente y constituyen una inmensa fuente de energía para el organismo. En este grupo se encuentran los triglicéridos.

Los **lípidos complejos**, constituidos por carbono, hidrógeno, y oxígeno, con moléculas de nitrógeno, fósforo, o ambos; que forman ésteres o amidas complejas, estructuradas a su vez por ácidos, alcoholes y diferentes tipos de bases. En el organismo, ofrecen una función estructural, formando parte del citosol y de membranas celulares y también como moléculas precursoras de hormonas y vitaminas. En este grupo se incluye el colesterol.

Los lípidos tienen dos orígenes. Un origen exógeno, que es el provisto por los alimentos, y un origen endógeno en un proceso de síntesis denominado lipogénesis, a partir de moléculas de carbohidratos y proteínas. Varios mecanismos participan en la producción endógena de lípidos, y uno de ellos se halla regulado por la insulina, es por eso que existe una relación estrecha entre el sobrepeso generado por la acumulación de grasas, ocasionada por una dieta rica en carbohidratos y el riesgo de padecer diabetes mellitus (10).

### **Importancia clínica de los lípidos sanguíneos**

Los lípidos más comúnmente analizados en un laboratorio de bioquímica clínica son los triglicéridos, el colesterol total y sus fracciones, las lipoproteínas de alta densidad (HDL-colesterol) y las lipoproteínas de baja densidad (LDL-colesterol).

Los lípidos totales elevados en sangre, se consideran predisponentes para trastornos cardiovasculares (hipertensión arterial, aterosclerosis, embolismo, infartos, entre otros) así como cerebrovasculares (isquemia, episodios cerebrovasculares, entre otros). Excepcionalmente, la elevación del HDL-colesterol, es considerada como un factor protector contra los trastornos vasculares, siempre que esté acompañado de un régimen alimenticio sano y de ejercicios periódicos, ya que esta fracción contribuye con el transporte eficiente del colesterol en exceso (circulante en las LDL) hacía el hígado para su metabolismo (11).

### **Colesterol total**

El colesterol es un compuesto hidrófobo, insoluble en agua y, en consecuencia, insoluble en plasma sanguíneo. Se sintetiza principalmente en el hígado y, en menor cantidad, en la piel, el intestino, las glándulas suprarrenales, las gónadas, y otros órganos.

El colesterol cumple un importante papel en el funcionamiento del organismo:

- Forma parte estructural de la membrana celular y organelos.
- Es precursor de las sales biliares, las hormonas esteroideas, y la vitamina D, entre otros componentes importantes del organismo.

Gran parte del colesterol se produce de forma endógena. Los carbohidratos y proteínas que se ingieren con la dieta se emplean para producir acetato, que posteriormente lo emplea el organismo para sintetizar tanto colesterol como ácidos grasos. En ciertos casos la dieta aporta de 150 a 300 mg de colesterol total, diarios; mientras que sólo el hígado produce 1,5 g por día.

Los niveles de colesterol disminuyen con la desnutrición, la esteatorrea, el hipertiroidismo, personas con infección aguda y anemia, cáncer; y aumentan con la elevación de las lipoproteínas en sangre, la presencia de un carcinoma pancreático, el hipotiroidismo, síndrome nefrótico, embarazo, y predisposiciones genéticas (11).



### **Determinación de Colesterol en sangre**

#### **Objetivos**

- 1. Propósito preventivo:** A todo individuo con factores de riesgo para problemas cardio y cerebrovasculares, como sobrepeso (IMC > 25), síndrome metabólico, sedentarismo, antecedentes familiares de hipertensión arterial (HTA), hombres mayores de 45 años, y mujeres menopaúsicas.
- 2. Propósito reactivo:** Despistaje de hipercolesterolemia, pacientes con cefalea aguda, hipertensión arterial, desvanecimiento, problemas circulatorios, crisis hipertensivas, etc.
- 3. Propósito de control:** Pacientes bajo tratamiento atilipemiente, mujeres menopaúsicas con tratamiento hormonal y colecistectomía.

#### **Método: Colesterol Oxidasa/Peroxidasa**

##### **Fundamentos**

El colesterol es oxidado enzimáticamente por la acción de la enzima colesterol esterasa (CHE) y el colesterol Oxidasa (CHOD) actúa con el colesterol en presencia de oxígeno para dar colestén-3-ona y peróxido de hidrógeno.

El  $H_2O_2$  en presencia de la 4-aminofenona y fenol por la acción de enzima peroxidasa (POD). Una quinonimina coloreada que está asociada a la cantidad de colesterol presente en la muestra y que puede ser medido por espectrofotometría a una longitud de onda de 505 nm. Cuyo valor es directamente proporcional a la concentración de colesterol total en sangre (12).



**Fotografía 11.** Promoción: año 2017. Tercer Semestre 2018. Estudiante Diana Orellana.

Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Médicas UEES

## ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA



## Condiciones

- Suero o plasma recolectado por procedimientos estándares.
- El colesterol es estable por 7 días a 2-8 °C.
- Pueden usarse los anticoagulantes heparina, EDTA, oxalato y fluoruro.

## Valores de referencia

- Deseables: hasta 200 mg/dL
- Moderadamente alto: 200-239 mg/dL
- Alto: >240 mg/dL

## Diagnóstico

Para establecer un alto riesgo de enfermedades vasculares y corona-



rias, no basta con un simple examen, es necesario cotejar con la clínica y la epidemiología.

### **Fracciones de Colesterol (HDL, LDL y VLDL)**

Los lípidos sintetizados en el hígado son transportados como lipoproteínas para ser empleados por las células del organismo. La circulación sistémica de colesterol es posible gracias a la formación de complejos solubles del colesterol con proteínas formando así las lipoproteínas: Lipoproteínas de baja densidad o LDL, las lipoproteínas de alta densidad o HDL, y las lipoproteínas de muy baja densidad o VLDL.

En condiciones fisiológicas normales, las LDL se encuentran en mayor proporción (60-70%). Las HDL corresponden a un 25% y el resto, los constituyen las VLDL(13).

### **Determinación Bioquímica de las HDL**



**Fotografía 12.** Promoción: año 2017. Tercer semestre 2018 Ordinario I. La aspiración de la Muestra para su lectura, de derecha a izquierda. Giorgio Sánchez Figueroa, Paola Herrera Cárdenas. Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Médicas UEES

## Objetivos

- 1. Preventivo:** Vigilar los niveles de las fracciones de colesterol riesgosas (LDL y VLDL) y protectoras (HDL) en personas con sobrepeso, y personas sedentarias, mayores de 45 años.
- 2. Reactivo:** Conocer el riesgo de enfermedades cardiovascular, cerebrovascular en pacientes con niveles de colesterol total elevado.
- 3. Control:** Conocer los niveles del colesterol total y fraccionado para conocer la efectividad del tratamiento a personas obesas, o posterior a infarto al miocardio o eventos cerebrovasculares.

## Método: Precipitación de las LDL/VLDL y Oxidasa/Peroxi-

### dasa Fundamentos

Las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y de baja densidad (LDL) presentes en la muestra, precipitan en presencia de fosfotungstato e iones magnesio.

El sobrenadante contiene las lipoproteínas de elevada densidad (HDL), cuyo colesterol se cuantifica espectrofotométricamente mediante las reacciones acopladas descritas a continuación (14).

### ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA



### Valores de Referencia de HDL-colesterol (\*)

Deseable: mayor a 40 mg/dL

Protector: mayor a 60 mg/dL



Riesgo de enfermedad cardíaca coronaria: menor a 40 mg/dL

(\*) Valores establecidos por el panel de expertos del National Cholesterol Education Program (NCEP)

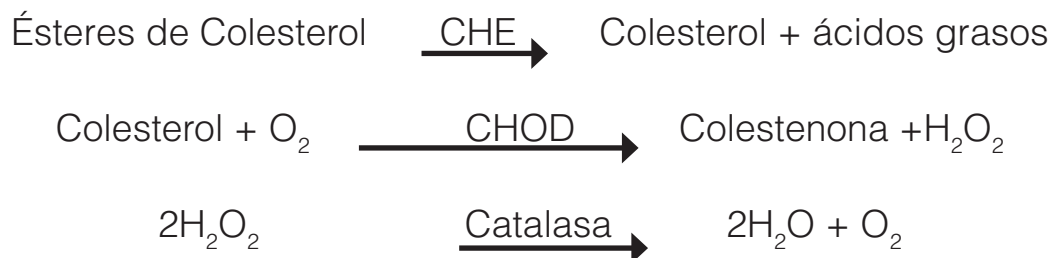
## Determinación de las LDL y las VLDL Fundamentos

### Método:

1. El colesterol de las lipoproteínas distintas a las LDL presentes en la muestra se descomponen por la acción simultánea del colesterol esterasa (CHE) dando colesterol + ácidos grasos y el colesterol oxidasa (CHOD) a pH 7,0, dando como productos finales colesteno y peróxido de hidrógeno convirtiéndose éste último en oxígeno y agua por la acción de la catalasa.

### ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA

#### - 1 Eliminación de Lipoproteínas no LDL



2. un tenso activo que actúa específicamente sobre la LDL se añade al producto del paso anterior, cuantificándose el colesterol residual mediante una reacción tipo Trinder en la que el derivado anilínico y la 4-aminoantipirina (4-AA) se condensan por el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en presencia de peroxidasa (POD) para formar una quinonimina roja proporcional a la concentración de colesterol-LDL de la muestra.



## ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA

### - 2 Medición de LDLc



Los valores de LDL se suelen calcular también de manera indirecta por un método matemático de la Fórmula de:

$$\text{Friedewald LDLc} = \text{CT} - (\text{HDLc} + \text{Tg}/5) \text{ mg/dL}$$

Es importante tener en cuenta que esta fórmula no debe usarse cuando los pacientes exhiben triglicéridos iguales o mayores a 400 mg/dL, ya que muchos estudios han demostrado que se pierde la exactitud de este cálculo matemático (15).

### Valores de Referencia de LDL-colesterol (\*)

Riesgo bajo o nulo (personas normales): menor a 130 mg/dL

Riesgo moderado (pacientes con probabilidad de ECC): entre 130 y 159 mg/dL

Riesgo alto: (pacientes sospechosos de padecer ECC): igual o mayor a 160 mg/dL

(\*) Valores establecidos por el panel de expertos del National Cholesterol Education Program (NCEP) en relación al riesgo de contraer enfermedad cardiaca coronaria (ECC).

### Diagnóstico

Es necesario que los valores de lípidos en sangre sean considerados en conjunto, incluyendo todo el perfil lipídico y pruebas de hemograma completo, así como los datos clínicos y hábitos del paciente relacionados con el estilo de vida (tabaquismo, alcohol, sedentarismo, estrés, entre otros) (16).



### Triglicéridos



**Fotografía 13.** Promoción: año 2017. Tercer Semestre 2018 Ordinario I. Estudiantes de medicina haciendo uso de las medidas de bioseguridad, de derecha a izquierda. Paola Herrera Cárdenas, Linda Espinoza Cabezas, Sonia Melo Mendoza, Giorgio Sánchez Figueroa. Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Médicas UEES

Los triglicéridos constituyen el 95% de los depósitos de grasa del organismo, y su rol principal consiste en proveer energía a las células, son absorbidos en el intestino a partir de las grasas de la dieta y sintetizados el hígado a partir de los carbohidratos ingeridos en los alimentos. Son transportados en la sangre por los quilomicrones (los absorbidos en el intestino) y por las VLDL (los sintetizados en el hígado).

Altos niveles de triglicéridos en sangre, se asocian con un riesgo importante para la aterosclerosis. La concentración elevada de triglicéridos en sangre puede deberse a diferentes trastornos como desordenes en el metabolismo de las grasas (hiperlipoproteinemias, mal funcionamiento de la actividad de las lipasas, y deficiencias de las apolipoproteínas C-III). Pero también se encuentran elevados en la diabetes, y trastornos endocrinos y renales (17).

## Determinación de Triglicéridos en sangre

### Objetivos

- 1. Propósito preventivo:** A todo individuo con factores de riesgo para problemas cardio y cerebrovasculares, como sobrepeso (IMC > 25), síndrome metabólico, sedentarismo, antecedentes familiares de hipertensión arterial (HTA), hombres mayores de 45 años, y mujeres menopaúsicas.
- 2. Propósito reactivo:** Despistaje de hipercolesterolemia, pacientes con cefalea aguda, hipertensión arterial, desvanecimiento, problemas circulatorios, crisis hipertensivas, etc.
- 3. Propósito de control:** Pacientes bajo tratamiento antilipemian-te, mujeres menopaúsicas con tratamiento hormonal, y colecis-tectomía.

### Método: GPO (Trinder)

#### Fundamentos

El método se basa en la hidrólisis enzimática de los triglicéridos séricos a glicerol y ácidos grasos libres (FFA) por acción de la lipoprotein lipasa (LPL). El glicerol es fosforilado por el adenosin trifosfato (ATP) en presencia de glicerolquinasa (GK) para formar glicerol-3-fosfato (G-3-P) y adenosin difosfato (ADP). El G-3-P es oxidado por el glicerofosfato oxidasa (GPO) en dihidroxiacetona fosfato (DHAP) y peróxido de hidrógeno. En presencia de peroxidasa (POD) el fenol y la 4-aminoantipirina (4-AA) se condensan por acción del peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) formándose un cromógeno rojo proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra (18).

#### ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA





### **Condiciones**

- Suero o plasma recolectado por procedimientos estándares.
- Estabilidad entre 5-7 días a 2-8 °C y 3 meses entre -15 y -20 °C, y varios años a -70°C.
- Pueden usarse los anticoagulantes heparina, EDTA, y deben emplearse tubos libres de glicerol.

### **Valores de referencia**

Deseable: menor a 150 mg/dL

De moderadamente elevado: 150 a 199 mg/dL

Elevado: 200 a 499 mg/dL

Muy elevado: Igual o mayor a 500 mg/dL

(\*) Valores establecidos por el panel de expertos del National Cholesterol Education Program (NCEP)

### **Diagnóstico**

Para establecer un alto riesgo de enfermedades vasculares y coronarias, no basta con un simple examen, es necesario cotejar con la clínica y la epidemiología.

# **BIOQUÍMICA CLÍNICA**

## PARA CIENCIAS DE LA SALUD

### **CAPÍTULO IV**

#### PERFIL RENAL



EDICIONES **MAWIL**





Las pruebas básicas de funcionamiento renal en bioquímica clínica están constituidas por la urea, la creatinina y el ácido úrico en sangre, las pruebas de orina rutinarias y las proteinurias (concentración de proteínas en orina).

La urea, la creatinina y el ácido úrico son buenos marcadores del funcionamiento renal ya que son productos de desecho que se excretan casi por completo por la orina. Así, un aumento en la concentración de estos parámetros en sangre, y muy particularmente de la creatinina y la urea; pueden ser indicativos de fallas en la función renal. Lo mismo ocurre con un aumento en la concentración de proteínas en la orina ya que, en condiciones normales, éstas deberían estar en una cantidad mínima.

Existen pruebas específicas para evaluar la filtración glomerular, como son las determinaciones de fosfatos, bicarbonatos y electrolitos, tanto en sangre como en orina; pero estas pruebas suelen hacerse en individuos donde el daño renal ya es evidente, y posteriores a un perfil renal básico alterado (19).

### **Urea**

La urea es una fracción de nitrógeno no proteico importante, presente en el organismo. En el ser humano, es el producto final del metabolismo proteico que se concentra en mayor cantidad. Se genera en el hígado y se excreta por la orina mediante los riñones. Concentraciones elevadas de urea, generalmente, es indicativo de algún trastorno renal. No obstante, hay factores como la dieta, el metabolismo proteico, la edad, entre otros, que contribuyen al aumento de este parámetro sin asociarse al daño renal (10).

### **Objetivos**

- 1. Propósito preventivo:** A individuos con antecedentes familiares de daño renal, y factores de riesgo renal como diabetes e hipertensión arterial (HTA), pacientes con insuficiencia cardíaca



congestiva, personas con ingesta elevada de sal, y sujetos mayores de 60 años.

- 2. Propósito reactivo:** Personas con oliguria o anuria, micciones con exceso de espuma, hematuria, proteínas positivas en un examen simple de orina parcial.
- 3. Propósito de control:** Pacientes con insuficiencia renal aguda o crónica.

### Fundamentos

La determinación del nitrógeno ureico en sangre (BUN por sus siglas en inglés) o su equivalente, los niveles de urea, suelen realizarse por dos métodos fundamentales, el enzimático cinético y el enzimático de punto final.

#### Método 1: Enzimático/colorimétrico.

La enzima ureasa descompone a la urea generando dióxido de carbono y amoníaco. El amoníaco reacciona con fenol e hipoclorito en un medio alcalino, produciendo azul de indofenol, el cual se cuantifica colorimétricamente. La concentración del azul de indofenol, es directamente proporcional a la concentración de urea en sangre.

#### Método 2: Enzimático/cinético.

Se mide la actividad de la enzima ureasa según la siguiente reacción:

### ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA



Se mide la densidad óptica de esta actividad enzimática a los 60 segundos y a los 120 segundos. Y la actividad promedio se determina mediante la diferencia entre las absorbancias a los dos tiempos (20).



### Condiciones

- Muestra: Suero, plasma obtenidos por método estándar, u orina de 24 horas, centrifugada y diluida 10 veces.
- Anticoagulantes: EDTA y Heparina. Los anticoagulantes con fluoruros inhiben la acción de la ureasa.
- Evitar muestras hemolizadas.
- La urea en suero o plasma es estable varios días, en refrigerador; 6 meses, en congelador. En orinas de pH < 4 es estable 4-5 días en refrigerador.

### Conversiones

- Urea (g/l) x 46,7 = BUN (mg/dL)
- Urea (mg/dL) x 0,1665 = Urea (mmol/L)
- Urea (mg/dL) x 0,467 = BUN (mg/dL)
- BUN (mg/dL) x 2,14 = Urea (mg/dL)
- Urea (g/24 hs) x 0,0167 = Urea (mol/24 h)

### Valores de referencia

Método enzimático/colorimétrico:

- Urea en Suero o plasma: 20 - 45 m/dL.
- Urea en Orina de 24 horas: 20-40 g/ 24 horas

Método enzimático/cinético.

- Urea en suero o plasma 10 - 50 mg/dL
- Urea en Orina de 24 horas: 20-40 g/ 24 horas

### Diagnóstico

Valores elevados, entre 40 y 60, con creatinina normal, pueden considerarse como fisiológicamente normales, atribuibles a la dieta, la edad o un metabolismo singular del individuo. Estos mismos valores con creatininas por encima de 1,5 mg/dL, pueden considerarse patológicos, indicadores precoces de daño renal o trastornos en el metabolismo de las proteínas. Valores por encima de 60mg, con creatininas por encima

de 2 mg/dL, están fuertemente asociados a daño renal (21).

### **Determinación de Creatinina**

La creatinina es un compuesto altamente difusible a nivel renal, resultante del metabolismo no enzimático de la creatina y la fosfocreatina, producida a una tasa constante desde el tejido muscular esquelético, es eliminada casi en su totalidad por el riñón.

La cuantificación en sangre, así como la prueba de depuración en orina de 24 horas, se consideran los parámetros fundamentales para el diagnóstico de los trastornos renales.

Esta cualidad de ser eliminada casi completamente por el riñón, hace que la determinación de creatinina en orina, sea un excelente parámetro de referencia para conocer el grado de fuga específica y anormal que puede tener un analito a nivel renal. Por ejemplo, parámetros como la urea, el calcio, el ácido úrico, el fósforo, el mercurio, entre otros, se determinan en razón a la creatinina para conocer en qué grado son depurados por el riñón sin una posterior reabsorción (22).

### **Objetivos**

- 1. Propósito preventivo:** A individuos con antecedentes familiares de daño renal, y factores de riesgo renal como diabetes e hipertensión arterial (HTA), pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva, personas con ingesta elevada de sal, y sujetos mayores de 60 años.
- 2. Propósito reactivo:** Personas con oliguria o anuria, micciones con exceso de espuma, hematuria, proteínas positivas en un examen simple de orina parcial. A niños con trastornos en el crecimiento o con hipocalcemia se les realiza las relaciones Calcio/creatinina, y fósforo/creatinina en orina parcial.
- 3. Propósito de control:** Pacientes con insuficiencia renal aguda o crónica, niños con tratamiento contra la hipocalcemia.



## Fundamentos

La creatinina en medio acuoso por acción de la enzima creatinina amidohidrolasa es convertida a creatina y esta es hidrolizada por la creatina amidohidrolasa a sarcosina y urea, la enzima sarcosina oxidasa promueve la desmetilación oxidativa de la sarcosina llevando a la producción glicina, formaldehído y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno reacciona con la peroxidasa en presencia de N-ethyl-N-sulfofopropyl-m-toluidina (ESPMT) y 4-aminoantipirina produciendo un complejo quinoneimina y agua.

### ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA



Las cuantificaciones de creatinina suelen determinarse por dos métodos un método colorimétrico de punto final y un método cinético.

**Método 1.** Colorimétrico de punto final, llamado también, Creatinina directa.

La creatinina y otros elementos presentes en la muestra reaccionan con el Reactivo de Jaffe (ácido pícrico + hidróxido de sodio) dando un complejo coloreado que se cuantifica mediante lectura fotométrica. La adición del compuesto ácido, destruye el picrato de creatinina formado en la reacción, no así el color emitido por los demás compuestos. Para sortear este obstáculo, la muestra, en lugar de leerse contra un blanco agua, se lee contra un blanco reactivo, y la diferencia de las absorbanacias resulta en el valor de la concentración de creatinina.

### Método 2. Cinético.

La velocidad de reacción entre la creatinina presente en la muestra y el reactivo de Jaffe, se comporta como una reacción cinética de primer orden. Se sabe que los cromógenos distintos a la creatinina, reaccionan dentro de los primeros 30 segundos de la reacción, de tal manera que, entre los 30 segundos y los 5 minutos posteriores al inicio de la reacción, la producción de color se debe sólo a la creatinina (23).

### Condiciones

- **Suero o plasma** obtenidos por método estándar, son separados de los glóbulos rojos tan pronto como sea posible, o al menos antes de las 2 horas después de la extracción de sangre.
- **Orina parcial o de 24 horas**, centrifugada, y se deben realizar las reacciones con diluciones 1:10 o con 1:50. Para obtener los resultados se multiplica la lectura por el factor de dilución.
- **Anticoagulantes:** únicamente usar EDTA o Heparina.
- **Evitar** muestras hemolizadas y sueros muy ictericos.
- La creatinina en suero y plasma puede ser viable hasta 3 días en refrigerador (2-10°C).
- La orina puede mantenerse hasta 4 días en refrigerador (2- 10°C) sin conservantes.

### Valores de referencia

Suero o plasma

Hombres: 0,7 – 1,3 mg/dL

Mujeres: 0,6 – 1,1 mg/dL

Orina

Hombres: 14 - 26 mg/Kg de peso corporal/24 h

Mujeres: 11 - 20 mg/Kg de peso corporal/24 h

Depuración de Creatinina:

Hombres: 94 - 140 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>

Mujeres: 72 - 110 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>



### **Diagnóstico**

Creatininas casuales entre 1,3 y 1,5 mg/dL, pueden deberse a variaciones fisiológicas, medicamentos, ejercicios físicos intensos, entre otros. Creatininas frecuentes entre 1,6 y 2 mg/dL, se consideran indicadoras precoces de insuficiencia renal. Creatininas por encima de 2 se asocian con daño renal (24).

### **Determinación de Ácido Úrico**

En el ser humano, el ácido úrico es el producto final del catabolismo de las bases púricas que forman parte de los ácidos nucleicos, principalmente la adenina y la guanina. La fuente endógena de ácido úrico está dada por la degradación de los tejidos propios del organismo. La fuente exógena, está determinada por la dieta.

Una gran parte del ácido úrico se elimina por la orina (600-900 mg/día), una dieta rica en nucleoproteínas (por ejemplo, las carnes) la excreción puede llegar a 1500-2000 mg/día. Cuando la ingesta de nucleoproteínas sobrepasa los límites de filtración renal para el ácido úrico, éste precipita y cristaliza. Cuando cristaliza en el parénquima renal, se producen litiasis renales importantes. También puede precipitar en las articulaciones de los miembros inferiores, generando la enfermedad llamada gota (25).

Así pues, el ácido úrico no sólo es importante para el perfil renal, sino también cuando se toma en cuenta dentro del perfil reumatológico, acompañado de las pruebas para determinar el factor reumatoide, los títulos de antiestreptolisina-O y las proteína C reactiva.

## Objetivos

- 1. Propósito preventivo:** A individuos con antecedentes familiares de daño renal, y factores de riesgo renal como diabetes e hipertensión arterial (HTA), pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva, personas con ingesta elevada de sal y carnes rojas, y sujetos mayores de 60 años.
- 2. Propósito reactivo:** Personas con oliguria o anuria, reporte de cristales de ácido úrico en exámenes de orina simples, hematuria, proteínas positivas en un examen simple de orina parcial. A niños con trastornos en el crecimiento o con hipocalcemia se les realiza las relaciones Calcio/creatinina, y fósforo/creatinina y ácido úrico/creatinina en orina parcial. Artralgias con inflamación severa de articulaciones de miembros inferiores.
- 3. Propósito de control:** Pacientes con insuficiencia renal aguda o crónica, niños con tratamiento contra la hipocalcemia pacientes con gota.

## Método: Enzimático de punto final

### Fundamentos

La enzima uricasa actúa sobre el ácido úrico formando peróxido de hidrógeno y alantoína. En presencia de peroxidasa (POD) la mezcla de diclorofenol sulfonato (DCFS) y 4-aminoantipirina (4-AA) se condensan por acción del peróxido de hidrógeno, formando una quinonimina coloreada que puede ser medido espectrofotométricamente (26).

### ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA



4 -AF = 4-Aminofenona

DCPS = 2.4-diclorofenol sulfonato





### Condiciones

- **Suero o plasma** obtenidos por métodos estándar, son separados de los glóbulos rojos tan pronto como sea posible, o al menos antes de las 2 horas después de la extracción de sangre.
- **Orina parcial o de 24 horas**, centrifugada, y se deben realizar las reacciones con diluciones 1:10. Para obtener los resultados se multiplica la lectura por el factor de dilución. Se debe agregar a la orina de 24 horas 10 ml de hidróxido de sodio al 5%, para prevenir la precipitación del ácido úrico.
- **Anticoagulantes**, únicamente usar EDTA o Heparina.
- **Evitar**, muestras hemolizadas.
- En suero, plasma u orina, es estable entre 2-3 días a temperatura ambiente, de 3-7 días en refrigeración, y de 6 meses a 1 año en congelación.

### Valores de referencia

Suero/plasma:

Hombres: 3,4 - 7,0 mg/dL

Mujeres: 2,4 - 5,7 mg/dL

Orina de 24 h: 0,50 – 1,00 g/24h

### Diagnóstico

La elevación del ácido úrico no puede considerarse por sí solo, para diagnosticar afecciones renales o reumatológicas, es necesario que se analice en función de otros exámenes relacionados y con la clínica del paciente. Sin embargo, valores por encima de 7,0 mg/dL de ácido úrico en sangre, permite encontrar cristales en la orina, indicando un posible litiasis o que ya ésta está instalada. Igualmente, por encima de 8 mg/dL ya se ha encontrado depósitos de ácido úrico en las articulaciones de los miembros inferiores.

# **BIOQUÍMICA CLÍNICA**

## PARA CIENCIAS DE LA SALUD

### **CAPÍTULO V**

#### PERFIL HEPÁTICO



EDICIONES **MAWIL**

Este perfil está constituido por pruebas que indican trastornos hepáticos como hepatitis viral, hepatitis tóxica, cirrosis, hiperplasias, entre otros. Está constituido por las enzimas transaminasas (TGO, TGP, GGT), la fosfatasa alcalina, la bilirrubina y sus fracciones directa e indirecta, y las proteínas totales junto con sus fracciones, albúmina y globulinas. Todos estos parámetros se alteran, aumentando o disminuyendo, en variadas combinaciones, según el tipo de patología hepática presente, de allí que es imprescindible evaluarlas en su conjunto si se quiere pensar en un diagnóstico (27).

En este capítulo se describirán las pruebas más fundamentales: la bilirrubina, las transaminasas y la fosfatasa alcalina.

### **La Bilirrubina**

La bilirrubina es un compuesto de desecho que surge de la degradación de la hemoglobina luego de la muerte natural de los eritrocitos, al cumplir su vida útil. Para poder ser transportada por la sangre existen diferentes mecanismos que permiten la unión de la bilirrubina a la albúmina. En condiciones fisiológicas normales, la bilirrubina se excreta por vía intestinal mediante las heces; para ello requiere pasar por el hígado y posteriormente a la vesícula biliar. Al pasar por el hígado, es captada por los hepatocitos para su conjugación y posterior excreción por la bilis. Así pues, al efectuar mediciones de la bilirrubina, esta deberá determinarse en sus formas: Total, directa e indirecta.

**Bilirrubina indirecta** o **bilirrubina no conjugada**. Es la bilirrubina que aún se encuentra unida a la albúmina, y no se ha conjugado al ácido glucurónico, en el hígado, para su eliminación.

**Bilirrubina directa** o **bilirrubina conjugada**. Es la bilirrubina que, al pasar por el hígado, se conjuga con el ácido glucurónico para, posteriormente, acumularse en la vesícula biliar y ser excretada hacia el intestino.

**Bilirrubina total** constituye el conjunto que suma la bilirrubina conjugada y la no conjugada.

Las alteraciones del hígado con inflamaciones agudas o crónicas (hepatitis), y las obstrucciones biliares, pueden provocar elevaciones de las concentraciones de las diferentes bilirrubinas en sangre (28).

Otras condiciones importantes para la presencia de una hiperbilirrubinemia, son, por un lado la anemia hemolítica del recién nacido. Se trata de una patología ocasionada por la incompatibilidad materno/fetal, donde se produce una hemólisis masiva de los eritrocitos. Asimismo, otros procesos hemolíticos como la anemia drepanocítica, devienen en un severo aumento de la bilirrubina. Lo que se teme de la hiperbilirrubinemia es la difusión de la bilirrubina dentro del sistema nervioso central, produciendo toxicidad a las células cerebrales.

Un marcador biológico potencial ha sido la bilirrubina sérica, la cual se ha encontrado en pacientes con apendicitis asociada a la liberación de toxinas de *Escherichia coli* y *Bacteroides fragilis* (29)

### Determinación de la Bilirrubinas

#### Objetivos

- 1. Propósito preventivo:** A individuos que con antecedentes familiares de anemia drepanocíticas o con comprobada heterocigocidad y homocigocidad para este tipo de anemia. Individuos con riesgo de contraer hepatitis virales.
- 2. Propósito reactivo:** Personas que manifiesten coluria y/o ictericia, dolores abdominales asociados a hepatomegalia.
- 3. Propósito de control:** Pacientes diagnóstico de hepatitis, cirrosis, y obstrucciones biliares en tratamiento.

#### Fundamentos

El ácido sulfanílico diazotado transforma la bilirrubina en azobilirrubina coloreada que se determina fotométricamente. De las dos fracciones de bilirrubina presentes en suero, glucuronato de bilirrubina y bilirubi-

na libre asociada a albúmina, sólo reacciona directamente la primera, mientras que la bilirrubina libre precisa ser disociada de la proteína por un acelerador para que reaccione. La bilirrubina indirecta se calcula por diferencia entre la bilirrubina total (con acelerador) y la directa (sin acelerador). Los conceptos «directa» e «indirecta» se refieren exclusivamente a las características de reacción en presencia o ausencia de aceleradores o solubilizantes y equivalen sólo de forma aproximada a las dos fracciones de bilirrubina citadas (30).

### ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA



Por lo general, se determinan bioquímicamente, las bilirrubinas total y directa, en tanto que la bilirrubina indirecta es la diferencia entre las anteriores.

#### Método 1: Colorimétrico.

La bilirrubina reacciona de manera específica con el ácido sulfanílico diazotado, generando un pigmento color rojo-violáceo (azobilirrubina) que se cuantifica por colorimetría. La bilirrubina conjugada o directa, puede reaccionar directamente con el diazorreactivo, pero, la bilirrubina no conjugada o indirecta necesita la intervención de un desarrollador acuoso que coadyuve la reacción. Así pues, para obtener la reacción de la bilirrubina total presente en la muestra, debe agregarse benzoato de cafeína al medio de reacción.

#### Condiciones

- Suero o plasma obtenidos de la manera convencional. Una vez separado del taco, proteger de la luz, para evitar la degradación de la bilirrubina. La luz es capaz de degradar hasta un 50% de la bilirrubina presente, en tan sólo una hora.



- Se puede determinar bilirrubina en líquido amniótico.
- Se recomienda heparina como anticoagulante.
- No debe hacerse la prueba con muestras hemolizadas.
- Estabilidad y almacenamiento: Preferiblemente muestra fresca.

Opcional, conservar un máximo de 48 h de 2 a 10 °C. Si es sangre completa, no más de 24 horas en refrigerador o 12 horas a temperatura ambiente.

- El líquido amniótico es conveniente mantenerlo congelado hasta el momento de efectuar el ensayo. Es por tal motivo que debe protegerse cuidadosamente.

### Valores de referencia

- Total: 0,3 a 1,0 mg/dL
- Directa o conjugada: 0 - 0,3 mg/dL en adultos.
- Indirecta o no conjugada: 0,1 a 0,5 mg/dL adultos.

### Diagnóstico

**Hiperbilirrubinemia** es el aumento de la concentración de bilirrubina en la sangre. Cuando ésta sobrepasa los 2 mg/dL, se puede observar coloración amarilla (ictericia) de la piel y las mucosas donde este pigmento suele acumularse. La hiperbilirrubinemia se produce porque hay una obstrucción en los conductos hepáticos, a consecuencia de una severa inflamación, o bien, a nivel biliar. Esto acarrea un retorno en dirección a la circulación sanguínea, de las diferentes formas de bilirrubina. De este modo, la proporción de las diferentes fracciones de bilirrubina, junto con las otras pruebas del perfil hepático, y la clínica del paciente, permiten establecer un diagnóstico.

Hiperbilirrubinemia con aumento de la bilirrubina indirecta no conjugada. La bilirrubina indirecta no ha llegado aún al hígado para conjugarse, y luego pasar a la vesícula. El predominio de ésta indica que el aumento de la bilirrubina se está produciendo por causas hemáticas, sin obstrucciones hepatobiliares. Las causas más frecuentes, suelen ser



las anemias hemolíticas, como la del recién nacido y la drepanocitosis.

Hiperbilirrubinemia con aumento de la bilirrubina directa, conjugada. En condiciones normales, la bilirrubina conjugada debería pasar directamente del hígado a la vesícula para constituir la bilis y poder ser excretada. Así pues, una alta concentración en sangre de este tipo de bilirrubina, indica que existe una obstrucción hepatobiliar. Si el aumento de la bilirrubina directa se presenta acompañado con valores elevados de las transaminasas (TGO y TGP), se presume que la obstrucción es a nivel hepático, sugiriendo hepatitis o cirrosis. Si los valores de las transaminasas se encuentran dentro del rango de la normalidad, se presume que la obstrucción es a nivel vesicular, sugiriendo que se está en presencia de una colestasia.

Para diagnosticar hepatitis viral, es necesario realizar las tipificaciones de los virus de hepatitis más comunes y de relevancia clínica: A, B y C. Por su parte, la hepatitis tóxica, suele ir acompañada de elevaciones de la Gammaglutamiltransferasa (GGT), muy sensible a las exposiciones con químicos.

### Transaminasas



**Fotografía 14.** La Docente Nancy Sorroza Rojas, explica la lectura que arroja el equipo, luego de 1 minuto lee la absorbancia inicial de las transaminasas y después de 3 minutos realiza otra lectura. Determina la diferencia promedio de  $\Delta A/\text{min}$  de los valores y obtiene el resultado del analito.

Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Médicas UEES

Las transaminasas son enzimas tipo transferasas, o sea que transfieren grupos amino desde un compuesto orgánico a otro, por lo general entre aminoácidos. Los nombres de cada transaminasa vienen dados por el aminoácido desde el cual se transfiere el grupo amino. Las transaminasas de interés bioquímico son la TGO, la TGP y la GGT.

TGP o transaminasa glutámico-pirúvica, también llamada alanina aminotransferasa (ALT), se encuentra principalmente en el citoplasma del hepatocito.

TGO o transaminasa glutámico oxalacética, también llamada aspartato aminotransferasa (AST), se localiza tanto en el citoplasma como en



la mitocondria. No sólo se encuentra en hígado, sino también en el miocardio, el músculo esquelético, los riñones, el cerebro, el páncreas, el pulmón, los leucocitos y los eritrocitos (31).

La elevación de las transaminasas, con frecuencia, se asocia con rupturas de las membranas de los hepatocitos por muerte celular ya que, esto, libera a estas enzimas a la circulación.

No toda elevación de las transaminasas se debe a daños hepáticos, no obstante, se considera que la TGP es mucho más específica del hígado que la TGO, quien llega a sufrir elevaciones importantes en casos de infarto al miocardio o en atletas, luego de un ejercicio intenso.

La TGO tiene una vida media en sangre menor a la TGP. Lo cual explica por qué, luego de un daño muscular agudo, hay una elevación inicial de la TGO, y al cabo de unos días predomina la TGP (32).

La Gammaglutamiltransferasa. Se localiza principalmente en riñón, vesículas seminales, páncreas, hígado, bazo y cerebro. Su actividad es influenciada por cualquier factor que afecte a las membranas celulares de los órganos que la contienen. En el caso de alteraciones hepáticas es índice de agresión tóxica. El análisis conjunto de GGT, fosfatasa alcalina, transaminasas y bilirrubina, amplía significativamente el panorama del diagnóstico diferencial de las enfermedades hepáticas primarias y secundarias, formando parte del hepatograma.

### Objetivos

- 1. Propósito preventivo:** Individuos a riesgo de contraer hepatitis virales o tóxicas.
- 2. Propósito reactivo:** Personas que manifiesten coluria y/o ictericia, dolores abdominales asociados a hepatomegalia.
- 3. Propósito de control:** Pacientes con diagnóstico de hepatitis, cirrosis, y obstrucciones biliares en tratamiento. Pacientes de infarto al miocardio. Pacientes con tratamiento de quimioterapia o radioterapia, para evaluar si hay daño renal (33).

### Fundamentos

La aspartato aminotransferasa (AST/GOT) cataliza la transferencia del grupo amino del L-Aspartato + 2-cetoglutarato con la formación de L-glutamato y oxalacetato. Este último (oxalacetato) es reducido a L-malato por la malato deshidrogenasa (MDH) en presencia de nicotinamido adenin dinucleótido reducido (NADH).

La reacción se controla cinéticamente a 340 nm a través de la disminución de la absorbancia resultante de la oxidación del NADH a NAD<sup>+</sup>, proporcional a la actividad AST en la muestra (34).

**La TGO cataliza la siguiente reacción:**

### ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA



En laboratorio se han desarrollado dos métodos para la cuantificación de la actividad de las transaminasas, con la misma calidad de exactitud y precisión. Existe un método enzimático/colorimétrico cuya duración de reacción es de poco más de una hora. Y también hay una prueba enzimática/cinética cuya duración oscila entre 3-4 min. Por la diferencia de los tiempos de reacción, se ha generalizado el uso de la prueba cinética por encima de la colorimétrica.

La alanina aminotransferasa (ALT o GPT) cataliza la transferencia del grupo amino de la L-alanina + 2-oxoglutarato, formando piruvato y glutamato. El piruvato formado es reducido a lactato en presencia de lactato deshidrogenasa (LDH) y NADH, generándose un compuesto coloreado que se mide por espectrofotometría a 340 nm.



La ALT/TGP cataliza la siguiente reacción:

### ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA



La actividad de la TGP se determina midiendo el valor total de la oxidación de la NADH leyendo la absorbancia de la reacción a los 60, 120 y 180 segundos (35).

### Condiciones

- Solo suero, recolectado de la manera usual.
- No requiere anticoagulantes ni aditivos.
- Evitar sueros hemolizados.
- Las transaminasas son viables en suero por un máximo de 5 días entre 2-4 °C.

### Valores de referencia

- TGO: 0-35 UI
- TGP: 1-30 UI

### Diagnóstico

- **Elevaciones leves:** hasta tres veces el valor máximo normal, sugiere hepatitis crónica.
- **Elevaciones moderadas:** desde 3 a 10 veces el valor máximo normal, sugiere hepatitis alcohólica o hepatitis viral crónica. La hepatitis alcohólica frecuentemente se asocia a elevaciones proporcionalmente mayores de SGOT que SGPT (relación SGOT/SGPT > 1).
- **Elevaciones Graves:** Por encima de 10 veces el valor máximo normal, sugiere hepatitis viral aguda (hepatitis A o hepatitis B).
- **Elevaciones muy graves,** por encima de 2000 UI/L, se ven casi



exclusivamente en isquemia hepática, intoxicación por medicamentos, y hepatitis viral aguda.

### **Fosfatasa alcalina**

También llamada ALP (por sus siglas en inglés), es una enzima hidrolasa responsable de eliminar grupos fosfatos de diversos tipos de compuestos como los nucleótidos, las proteínas, entre otras. Las fosfatasas alcalinas cumplen su función con mayor efectividad en un medio alcalino. Esta enzima se encuentra en casi todos los tejidos del cuerpo, presentando sus mayores concentraciones en el hígado, los huesos, el riñón y el intestino (36).

En condiciones fisiológicas normales es común encontrar aumentos en niños, mujeres embarazadas y ancianos. En los niños, por tener los procesos osteoblásticos activos, por el contrario, en el embarazo y en los ancianos se debe al aumento de los procesos osteoclasticos. En las edades entre 12 y 40 años (37).

Algunas enfermedades que producen aumento de la fosfatasa alcalina son las obstrucciones hepáticas, las hepatitis, la hepatotoxicidad por medicamentos, la enfermedad ósea de Paget, las mononucleosis, la osteomalacia; así como el cretinismo y el déficit de ácido ascórbico.

### **Objetivos**

- 1. Propósito preventivo:** Individuos a riesgo de contraer hepatitis virales o tóxicas, mujeres embarazadas, personas mayores de 45 años, niños con problemas del crecimiento.
- 2. Propósito reactivo:** Personas que manifiesten coluria y/o ictericia, dolores abdominales asociados a hepatomegalia, personas con descalcificación ósea, malabsorción del calcio.
- 3. Propósito de control:** Pacientes con diagnóstico de hepatitis, cirrosis, y obstrucciones biliares en tratamiento. Pacientes con osteoporosis.

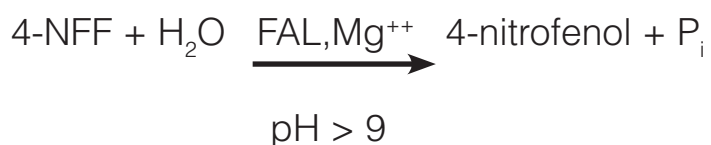


### Método 1: Enzimático/cinético

#### Fundamentos

Las fosfatasas alcalinas (FAL) catalizan la hidrólisis del 4-nitrofenilfosfato (4-NFF) formando 4-nitrofenol y fosfato inorgánico, actuando el tampón alcalino como aceptor del grupo fosfato. La reacción se controla cinéticamente a 405 nm a partir de la velocidad de formación del 4-nitrofenol, proporcional a la actividad FAL presente en la muestra.

#### ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA



Se miden dos absorbancias, una al instante de introducir la muestra en el lector y otra a los 2 minutos. El promedio de la lectura ofrece la actividad de la enzima (38).

#### Condiciones

- Pacientes con al menos ocho horas de ayuno.
- Muestra: Suero o plasma obtenidos por métodos estándar.
- Anticoagulantes: Heparina. Los anticoagulantes con fluoruros, el oxalato y el EDTA son inhibidores de la enzima porque forman complejos con el magnesio.
- Evitar muestras con hemólisis, ictericia y lipemia intensa.
- Viabilidad de suero o plasma estable por 7 días en refrigerador.
- Almacenamiento a temperatura ambiente produce resultados falsamente elevados.

#### Valores de referencia

- Adultos: 27-100 U/L
- Niños: 75-390 UL

### **Diagnóstico**

Vista sola, la fosfatasa alcalina, puede ser un buen indicador precoz de osteoporosis y otros problemas con la descalcificación ósea.

Para el diagnóstico de enfermedades hepáticas, la fosfatasa alcalina debe ser evaluada en conjunto a las otras pruebas del perfil hepático. Se puede encontrar que las fosfatasas alcalinas se elevan en presencia de obstrucciones biliares, para lo cual es recomendable medir también la gamma-glutamil transferasa (GGT).

En la Colestasia extrahepática, obstrucción de la vía biliar en cualquier nivel, muestra alta concentración de las fosfatasas alcalinas. Algunos de los factores causales de este tipo de obstrucción son los cálculos biliares, el carcinoma pancreático, el colangiocarcinoma, la colangitis esclerosante y otros tumores.

La Colestasia intrahepática son aquellas condiciones que producen daño de la vía biliar intrahepática. Las principales son la cirrosis biliar primaria, y las obstrucciones segmentarias de la vía biliar y algunos fármacos.

Finalmente, las Enfermedades infiltrativas que pueden presentarse con muy altas concentraciones o actividad muy marcada de la fosfatasa alcalina: Entre éstas tenemos: los Linfomas, los procesos metastásicos, la TBC, entre otras (39).

### **Proteínas sanguíneas**

Las proteínas son compuestos orgánicos macromoleculares, fundamentales para la vida y presentes en todo el organismo. Cumplen funciones estructurales (en membranas, estructuras de hormonas, enzimas y anticuerpos), de transporte; y una gama inmensa de funciones.

La proteína más abundante en plasma es la albúmina cuya función principal es la de transportar diferentes tipos de moléculas y compues-

tos a lo largo del organismo. También contribuye con la manutención de la presión coloidosmótica en la sangre.

Se producen disminuciones de las proteínas en sangre, en condiciones como pérdidas renales, desnutrición, infecciones, entre otras. Las hiperproteinemias, se producen en casos como mieloma múltiple, endocarditis bacteriana y hemoconcentraciones, entre otras; sin embargo los aumentos anormales de albúmina son ocasionales y se relacionan casi siempre con deshidratación.

La albúmina es la proteína más abundante de la sangre y se produce únicamente en el hígado, por esto es un excelente marcador de la función hepática, además de que la capacidad del hígado de formar las proteínas, se ve afectada por diversas patologías.

Las proteínas más abundantes en sangre, después de la albumina, son las globulinas, encargadas de constituir la estructura de las inmunoglobulinas, proteínas que forman parte de la respuesta humoral del sistema inmune.

Cuando se mide las proteínas en sangre, se cuantifican por técnicas bioquímicas las proteínas totales y la albumina; la diferencia entre estos parámetros ofrece la concentración de globulinas. Es usual calcular la razón Albúmina: Globulina, que ofrece datos en relación al predominio de una u otra, cuya expresión puede ser orientadora para el diagnóstico o para el control del tratamiento (40).

### Objetivos

- 1. Propósito preventivo:** Individuos con riesgo de contraer hepatitis virales o tóxicas, mujeres embarazadas, personas mayores de 45 años.
- 2. Propósito reactivo:** Personas que manifiesten coluria y/o ictericia, dolores abdominales asociados a hepatomegalia, presencia de proteínas en un examen de orina simple, síndrome nefrótico,



insuficiencia renal, entre otros.

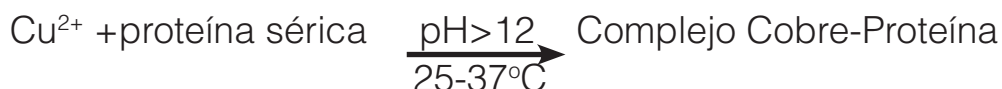
- 3. Propósito de control:** Pacientes con diagnóstico de hepatitis, cirrosis, y obstrucciones biliares en tratamiento, pacientes renales, con mieloma múltiple, cáncer, entre otros.

### **Método para Proteínas Totales:**

#### **Fundamentos**

En la reacción del biuret se forma un quelato entre el ión  $\text{Cu}^{2+}$ . Los enlaces peptídicos reaccionan con iones de cobre del reactivo de Biuret, en medio alcalino, para generar un compuesto color violeta, cuya intensidad es directamente proporcional a la concentración de proteínas totales presente.

### **ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA**



### **Método para Albúmina:**

El método está basado en la unión específica del verde de bromocresol (VBC), un colorante aniónico, y la proteína a un pH ácido con el consiguiente desplazamiento del espectro de absorción del complejo. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de albúmina en la muestra (41).



### **Condiciones**

- Sólo suero, recolectado de la manera estándar, sin anticoagulante.
- La hemolisis, la ictericia y la lipemia, leves, no afectan los ensayos.
- El suero se conserva por 3 días a  $2-10^{\circ}\text{C}$ ) o una semana en congelador.





### Valores de referencia

- Proteínas totales: 6,1 a 7,9 g/dL
- Albúmina: 3,5 a 4,8 g/dL
- Relación A/G: 1,2 a 2,2

### Diagnóstico

La hipoalbuminemia puede indicar un daño hepático crónico como cirrosis hepática de larga data, y también problemas renales como síndrome nefrótico o insuficiencia renal crónica. Otras enfermedades crónicas producen disminuciones de la albumina en sangre por ejemplo, neoplasias, insuficiencia cardiaca, enfermedades intestinales (malabsorción), entre otras.

La hiperalbuminemia, aunque no se han descrito enfermedades que se asocien a altas concentraciones de albúmina, se le ha encontrado asociadas a condiciones extraordinarias de buena nutrición en jóvenes. No obstante, elevaciones moderadas se han encontrado en hiperplasias del hígado que luego disminuyen si se instala un proceso cancerígeno franco.

Las globulinas aumentan con los procesos inflamatorios agudos. Relaciones A/G con cifras bajas son indicativas de hipoalbuminemia, y un aumento dramático de las globulinas a expensas de la albúmina, podría indicar procesos autoinmunes importantes como el lupus (42).

# **BIOQUÍMICA CLÍNICA**

## PARA CIENCIAS DE LA SALUD

### **CAPÍTULO VI**

#### ENZIMAS



EDICIONES **MAWIL**

### Amilasa



**Fotografía 15.** La Docente Magdalena Aray Andrade prepara el espectrofotómetro previo a la clase práctica de Bioquímica correspondiente la cuantificación de la amilasa.

Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Médicas UEES.

Las amilasas son enzimas del tipo hidrolasa, producidas, en menor cantidad en las glándulas salivales, y en mayor cantidad, en el páncreas; que tienen como función catalizar las reacciones de hidrólisis del almidón para formar azúcares digeribles e incluso glucosa libre.

Cuando alguna las glándulas secretoras de amilasas se inflama, como en la parotiditis o en la pancreatitis; como consecuencia, aumenta la producción de amilasas y aparece elevado su nivel en sangre (amilasemia). La insuficiencia renal también puede contribuir con el aumento de la amilasa en sangre, ya que se reduce su excreción por este órgano.

La amilasa se considera un marcador importante de la función pancreática, ya que se eleva o disminuye con la hipertrofia de este, o con la disminución de sus funciones. Así, por ejemplo, la función exocrina del páncreas suele disminuir con la fibrosis quística y por el contrario, aumenta debido a las pancreatitis crónicas causadas por el hábito del alcoholismo. El adenocarcinoma de páncreas, es la enfermedad maligna de esta glándula (43). Suele ser de mal pronóstico. Con esta condición los niveles de amilasa se elevan dramáticamente.

## Objetivos

1. **Propósito preventivo:** A individuos con antecedentes familiares de adenocarcinoma de páncreas.
2. **Propósito reactivo:** Pacientes diabéticos, pacientes con presunta parotiditis y trastornos recurrentes del sistema digestivo.
3. **Propósito de control:** Pacientes con parotiditis en tratamiento, pacientes con adenocarcinoma bajo tratamiento.

## Método 1: Enzimático/colorimétrico

### Fundamentos

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

### ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA



### Condiciones

- Suero recolectado de la manera estándar.
- Es recomendable procesar la muestra a las pocas horas de haber sido tomada. Sin embargo, pueden conservarse hasta por una semana bajo 2-10 °C.
- Los anticoagulantes citratos y oxalatos inhiben la actividad de la amilasa.
- Orina, el sujeto descarta la primera micción del día, y toma la siguiente 2 horas después de la primera. Esta muestra, que corresponde a 2 horas de diuresis, se diluye a 200 ml con agua. La determinación se efectúa con 20  $\mu$ l de esta dilución, obteniéndose el resultado directamente en Unidades Amilolíticas/hora (44).



### Valores de referencia

- Suero: < 120 UA/dL
- Orina: < 260 UA/hora

### Diagnóstico

La pancreatitis aguda ofrece valores entre 300-12000 unidades amilolíticas/dL en sangre, en tanto que en orina muestra más de 900 Unidades amilolíticas/hora.

La pancreatitis crónica por su parte, arroja valores en sangre de hasta 200 UA/dL y en orina más de 300 UA/HORA.

La parotiditis exhibe valores séricos de más de 350 UA/dL y en orina más de 750 UA/hora (19).

### La lipasa

La lipasa es una enzima, producida por el páncreas, cuya función es separar las grandes moléculas de grasa que se ingieren en la dieta, de tal forma que se puedan absorber con facilidad. Esto lo hace, catalizando la hidrólisis de los triglicéridos para llevarlos a glicerol y ácidos grasos libres.

La cuantificación de la actividad de la lipasa se usa para diagnosticar enfermedades como pancreatitis aguda y la obstrucción del conducto pancreático. El diagnóstico debe consolidarse con la clínica del paciente y otras pruebas de laboratorio. Otras afecciones en las cuales se incrementa la actividad de lipasa incluyen intoxicación aguda con alcohol y traumatismos accidentales o quirúrgicos del abdomen (31).

### Objetivos

1. **Propósito preventivo:** A individuos con antecedentes familiares de adenocarcinoma de páncreas.
2. **Propósito reactivo:** Pacientes diabéticos, pacientes trastornos recurrentes del sistema digestivo e intolerantes a la grasa (es-



teatorrea).

- 3. Propósito de control:** Pacientes con adenocarcinoma de páncreas bajo tratamiento.

### **Fundamentos**

#### **Método Cinético**

La lipasa, presente en la muestra, hidroliza el sustrato 1,2-O-dilauril-racglicerol-3-glutárico-(6'-metilresorufina)-éster para generar ácido glutárico-metilresorufina éster, compuesto inestable que se descompone espontáneamente, liberando un compuesto coloreado (metilresorufina) que se mide a 570 nm. La velocidad de aparición de color es directamente proporcional a la actividad enzimática (45).

#### **Condiciones**

- Suero o plasma heparinizado obtenido de la manera usual. Separar del tubo lo más pronto posible después de la extracción.
- La lipasa en suero o plasma es estable 8 días bajo 2-10°C y hasta 12 meses a -20°C.

#### **Valores de referencia**

Adultos: 13 - 60 U/l (37°C)

#### **Diagnóstico**

Altos niveles de actividad de la lipasa pueden estar ocasionados, entre otras causas, por una obstrucción intestinal, por la condición celíaca, por úlceras duodenales, adenocarcinoma pancreático y pancreatitis.

#### **Fosfatasa ácida total y prostática**

Las fosfatasas ácidas están presentes en gran parte de los tejidos del organismo, siendo particularmente altas en la próstata, el estómago, el hígado, los músculos, el bazo, los eritrocitos y las plaquetas. Su principal función consiste en escindir los grupos fosfatos ligados a diferentes moléculas. Se encuentra almacenada en los lisosomas y se activa cuando estos se unen a los endosomas, los cuales tienen un pH ácido.



Es por esto que su óptima actividad se desarrolle en medios ácidos.

La fosfatasa ácida prostática constituye es un indicador precoz importante para diagnosticar el cáncer de próstata. De allí el interés clínico principal de esta prueba.

Altas concentraciones de Fosfatasa ácida total se asocian a algunas enfermedades hematológicas como leucemia mielocítica, trombocitopenia idiopática; y óseas como enfermedad de Paget, carcinoma óseo; así como en algunos tipos de cáncer, enfermedades hepáticas (hepatitis, ictericia obstructiva), etc (46).

### **Objetivos**

- 1. Propósito preventivo:** A hombres mayores de 45 años de edad, con antecedentes familiares con cáncer de próstata.
- 2. Propósito reactivo:** Hombres con diagnóstico de prostatitis o hiperplasia prostática.
- 3. Propósito de control:** Pacientes bajo tratamiento prostático.

### **Fundamentos**

#### **Método Cinético**

La fosfatasa ácida hidroliza el  $\alpha$ -naftil fosfato en un medio ácido, con la liberación del fosfato y el  $\alpha$ -naftol. El naftol reacciona posteriormente con un diazorreactivo incorporado en el sistema generando un Cromógeno azoico (pigmento amarillo) que es proporcional a la actividad de fosfatasa ácida total presente en la muestra. Cuando se mide la actividad en presencia de tartrato, se inhibe la actividad de la isoenzima prostática. La fracción prostática corresponde a la diferencia entre las actividades de fosfatasa ácida total y de la resistente al tartrato (Fosfatasa Ácida no Prostática/ACP-NP) (47).



## ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA



### Condiciones

- Suero obtenido de la manera usual. No utilizar plasma. Separar el suero del plasma lo más pronto posible y refrigerar hasta el momento de su procesamiento. Para prevenir la inactivación de la enzima, puede agregarse al suero, 50  $\mu\text{l}$  de acético 0,7 mol/l por cada mililitro de suero. En estas condiciones puede permanecer viable durante varios días bajo 2-10  $^{\circ}\text{C}$ .
- Deben rechazarse sueros francamente ictericos.
- No usar anticoagulantes.

### Valores de referencia

- Fosfatasa Acida Total (ACP): < 9 U/L (a 37 $^{\circ}$  C)
- Fosfatasa Acida Prostática (PAP): < 3,5 U/L (a 37 $^{\circ}$  C)

### Diagnóstico

No se puede usar la fosfatasa ácida para fines de diagnóstico por sí sola, es necesario cotejar con la clínica del paciente y otras evaluaciones de laboratorio.



# **BIOQUÍMICA CLÍNICA**

## PARA CIENCIAS DE LA SALUD

### **CAPÍTULO VII**

#### ELECTROLITOS



EDICIONES **MAWIL**

Los electrolitos son un conjunto de elementos ionizados que se encuentran disueltos en la sangre y otros líquidos del organismo. Los electrolitos comunes incluyen: el calcio, el cloro, el magnesio, el fósforo, el potasio, y el sodio. Éstos pueden presentarse como ácidos, álcalis o sales.

Cumplen diversas funciones entre las que se encuentran mantener la osmolaridad plasmática normal y a su vez, los gradientes de concentración entre los medios intra y extra celular que permiten la osmosis y la difusión de los solutos a estos compartimientos; asimismo mantienen el equilibrio ácido-base, para mantener el pH estable de la sangre, sirven de transportadores a nivel de la membrana celular, en el intercambio de solutos en la membrana celular participando estructuralmente en las bombas o compuertas de ésta; en la contracción muscular y en la creación de los potenciales de acción de las células nerviosas, entre otras, múltiples.

La disminución en la concentración normal de electrolitos en sangre puede producirse por pérdidas masivas de líquidos corporales, como en el vómito, las diarreas, las diuresis profusas, consumo excesivo de agua (produce dilución), entre otras. También puede ocasionarse una disminución de los electrolitos cuando estos no son ingeridos en la dieta.

Por otra parte, puede darse la elevación de electrolitos cuando se pierde agua de manera profusa, como en las diarreas osmóticas, el sudor excesivo y una diuresis sin pérdida de electrolitos.

En condiciones fisiológicas normales, el cuerpo exhibe mecanismos muy eficientes para mantener el equilibrio electrolítico, pero esto no ocurre cuando las causas son patológicas (por la falla de alguna hormona o mecanismo de control) o exógenas no controladas (cuando el sujeto se somete a condiciones adversas como calor extremo, o consume sustancias químicas que desajustan los mecanismos ácido-base).



La alteración de los valores del sodio suele asociarse a pérdidas electrolíticas por deshidratación en vómitos, diarreas, y sudoración profusa; en disfunciones renales, trastornos asociados a la aldosterona, y otros problemas metabólicos (49).

### Objetivos

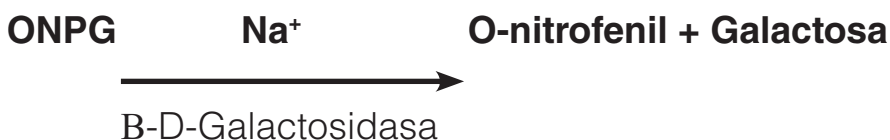
- 1. Propósito preventivo:** Recién nacidos, adultos mayores, diabéticos, enuresis, atletas de alto rendimiento.
- 2. Propósito reactivo:** Vómitos, diarreas, personas con oliguria o anuria, micciones con exceso de espuma, hematuria, proteínas positivas en un examen simple de orina parcial, insuficiencia renal, diabetes mellitus.
- 3. Propósito de control:** Pacientes con insuficiencia renal aguda o crónica.

### Fundamentos

#### Método 1: Enzimático/cinético

El sodio activa la reacción enzimática entre la beta-D-galactosidasa dependiente de sodio, y su sustrato el o-nitrofenil-D-galactopiranososa, generando o-nitrofenil y galactosa. La velocidad de formación de los productos, medible por espectrofotometría, es directamente proporcional a la cantidad de sodio presente en la muestra. Las absorbancias se leen a los 60 y 180 s (50).

### ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA



#### Método 2: Colorimétrico.

El sodio es precipitado como una sal triple, el acetato de uranilo de magnesio y sodico, con el exceso de uranio, luego de haber reaccio-



nado con ferrocianuro, se produce un cromóforo cuya absorbancia es inversamente proporcional a las concentraciones de sodio presentes en la muestra.

### **Condiciones**

- Muestra: Suero obtenido por métodos estándar, u orina de 24 horas, centrifugada, no requiere dilución.
- Analito estable por 7 días en refrigeración, y 12 meses a  $-20^{\circ}\text{C}$ .
- Evitar muestras fuertemente hemolizadas, ictéricas o lipémicas.

### **Valores de referencia**

- Sangre: 135-155 mEq/L
- Orina de 24 h: 40-220 mEq/L/24h

### **Diagnóstico**

Algunas causas de hipernatremia son trastorno de la hormona vasopresina o ADH bien sea por un problema hipofisario o por disfunción renal, a pérdidas excesivas de agua sin pérdida de sales y algunos trastornos neurológicos. Evaluación clínica: polidipsia, poliuria, espasmos musculares, entre otros.

La hiponatremia se produce por pérdidas elevadas de sodio por el empleo de diuréticos, por diuresis osmótica, por afecciones renales. Evaluación clínica: náuseas, vómitos, calambres musculares, alteraciones visuales, cefalea, letargia, convulsiones, coma, etcétera.

En orina, los niveles de sodio pueden estar causados por: medicamentos (diuréticos), baja alteración de las glándulas suprarrenales, nefropatías, ingesta elevada de sal en la dieta.

Los niveles por debajo del valor de referencia, en orina pueden deberse a: hiperaldosteronismo, por trastorno de la glándula suprarrenal, deshidratación, diarrea y pérdida de líquidos, insuficiencia cardíaca, insuficiencia renal, cirrosis hepática, entre otras causas.

### **Potasio**

El potasio es un elemento químico cuyo símbolo es K, por su nombre latino *Kalium*. Es el catión presente en mayor concentración en el medio intracelular del cuerpo humano. Entre sus principales funciones se encuentra que participa en el equilibrio osmótico y el equilibrio ácido-base. También está involucrado en las contracciones musculares en la transmisión del impulso nervioso mediante los potenciales de acción celular (51).

### **Objetivo**

- 1. Propósito preventivo:** Recién nacidos, adultos mayores, diabéticos, enuresis, atletas de alto rendimiento.
- 2. Propósito reactivo:** Vómitos, diarreas, personas con oliguria o anuria, micciones con exceso de espuma, hematuria, proteínas positivas en un examen simple de orina parcial, insuficiencia renal, diabetes mellitus.
- 3. Propósito de control:** Pacientes con insuficiencia renal aguda o crónica.

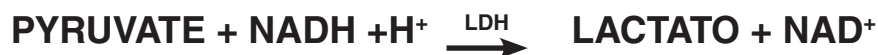
### **Método: Enzimático**

#### **Fundamentos**

El Potasio se determina enzimáticamente a través de la actividad de ADP, usando como sustrato fosfoenolpiruvato. El piruvato formado reacciona con el NADH en presencia de LDH para formar Lactato y NAD. El correspondiente descenso de absorbancia a 340 nm es proporcional a la concentración de potasio (52).



## ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA



### Condiciones

- Muestra: Preferiblemente suero obtenido por métodos estándar, u orina de 24 horas, centrifugada, no requiere dilución. Puede usarse plasma heparinizado.
- Analito estable por 14 días en refrigeración.
- Evitar muestras hemolizadas.

### Valores de referencia

- Suero: 3,4 a 5,3 mEq/L
- Orina 24 h: 25 a 125 mEq/L al día.

### Diagnóstico

Disminución en las concentraciones de potasio sérico (hipokalemia) puede producir daños orgánicos importantes que pueden llegar a conducir a la muerte. Las causas más comunes de la hipokalemia son: diarrea, diuresis elevada, vómitos y deshidratación. Observar los rasgos clínicos como: debilidad muscular, fatiga, astenia, calambres, íleo, estreñimiento, arritmias cardíacas, parálisis respiratorias y alcalosis.

La hiperkalemia, es un trastorno electrolítico grave, y se debe, comúnmente a: aumento del ingreso al cuerpo por vía oral o parenteral, insuficiencia renal. Los principales signos clínicos son: parestesias, debilidad, insuficiencia respiratoria, náuseas, vómitos, arritmias ventriculares y paro cardiaco.

En orina niveles elevados de potasio se generan, comúnmente, a consecuencia de acidosis metabólica, anorexia, bulimia, necrosis tubular renal, hipomagnesemia y daños musculares.

Concentraciones muy bajas en orina se deben fundamentalmente a: medicamentos como los betabloqueantes, el litio, el trimetoprim, los diuréticos ahorradores de potasio y los AINES. También por problemas en las glándulas suprarrenales con escasa producción de la aldosterona.

### **Cloro**

El cloro es un tipo de electrolito, que en el organismo se encuentra en su forma molecular denominada cloruro. A igual que los otros electrolitos, el cloro, con su carga eléctrica negativa, contribuye con el balance osmótico y el equilibrio ácido-base del organismo. El cloro por lo general se mide junto con el sodio y el potasio para el despistaje de trastornos de salud como las enfermedades del hígado o del riñón, la insuficiencia cardíaca y la hipertensión arterial.

La determinación de cloro en sangre es importante también en casos de pérdidas de líquidos con posibles problemas con el equilibrio ácido-base. En casos de vómitos, diarrea, cansancio, debilidad, disnea, etcétera (48).

### **Objetivos**

- 1. Propósito preventivo:** Recién nacidos, adultos mayores, diabetes, enuresis, atletas de alto rendimiento.
- 2. Propósito reactivo:** Vómitos, diarreas, personas con oliguria o anuria, micciones con exceso de espuma, hematuria, proteínas positivas en un examen simple de orina parcial, insuficiencia renal y diabetes mellitus.
- 3. Propósito de control:** Pacientes con insuficiencia renal aguda o crónica.





### **Método: Colorimétrica**

#### **Fundamentos**

Los iones de cloro presentes en la muestra, reaccionan con el tiocianato de mercurio, generando cloruro de mercurio e iones de tiocianato. Éstos se combinan con iones férricos formando tiocianato férrico, de color amarillo, que es directamente proporcional a la concentración del cloro presente en la muestra.

#### **Condiciones**

- Suero, plasma u orina de 24 horas centrifugada sin diluir.
- Se acepta el uso de los anticoagulantes EDTA, oxalato y heparina.
- Separar cuanto antes el suero o plasma del paquete celular. Esto debe hacerse antes de que transcurra una hora de la extracción.
- El analito es estable por 7 días bajo refrigeración y por 6 meses a  $-10^{\circ}\text{C}$ .

#### **Valores de referencia**

- Suero o plasma: 97-106 mEq/L
- Orina: 170-254 mEq/L

#### **Diagnóstico**

Algunas causas de hipocloremia son: deshidratación, insuficiencia renal, acidosis y alcalosis.

Las causas más comunes para la hipercloremia son: Insuficiencia cardíaca o respiratoria, y trastornos de las glándulas suprarrenales (53).

#### **Calcio**

El Calcio es uno de los electrolitos que cumple múltiples funciones de gran importancia para el organismo: forma parte esencial en la estructura de huesos y dientes, cumple funciones metabólicas, regulación enzimática, influye sobre la función de transporte de las membranas

celulares, juega un papel crucial en la liberación de neurotransmisores. y en la regulación de la frecuencia cardíaca.

El calcio sérico está constituido por de tres fracciones: el calcio iónico, conocido como inorgánico; el calcio anicónico, unido a los fosfatos; y el calcio ligado a proteínas (albúmina, globulina, y enzimas). El calcio iónico es el que realiza la mayoría de funciones metabólicas.

Las concentraciones de calcio en el organismo están controladas fundamentalmente por la parathormona, la calcitonina y la vitamina D.

El consumo de calcio que una persona requiere depende de su edad y de otras causas. Los niños precisan más calcio que los adultos jóvenes. Las mujeres, durante, y después del embarazo, o después de 45 años, necesitan del calcio para evitar la osteoporosis (54).

### **Objetivo**

- 1. Propósito preventivo:** Mujeres embarazadas o mayores de 45 años.
- 2. Propósito reactivo:** Estados de pérdidas de líquidos. Fragilidad ósea. Pacientes operados de la tiroides. Embarazo. Niños que muestran trastornos del crecimiento y personas con orinas recurrentes que presentan cristales de oxalato de calcio abundantes.
- 3. Propósito de control:** Pacientes con osteoporosis y pacientes con problemas de malabsorción.

### **Método: Colorimétrico**

#### **Fundamentos**

Se hace reaccionar el calcio con la o-cresolftaleína complexona, en un medio alcalino, de esta reacción resulta un complejo color púrpura, que se puede medir foto colorimétricamente.



### ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA



#### Relación Calcio/Creatinina

Los pediatras suelen solicitar varias pruebas de calcio en orina, cuando se encuentran con niños con dificultades para crecer por causa de una excreción de calcio anormal por el riñón.

Estos exámenes son:

##### Día 1

Calcio en orina de 24 horas, con el fin de establecer la cantidad diaria de calcio excretada por la orina.

##### Día 2

Relación calcio/creatinina con muestra en ayunas. Se recolecta la segunda micción de la mañana, en estado de ayuno de al menos 8 h.

Relación calcio/creatinina, con muestra postprandial. Luego de tomarse la primera muestra, el niño debe desayunar, lo que consume normalmente pero se le adiciona un vaso de leche. La siguiente micción que produzca, se recolecta para hacer la segunda relación.

Estas pruebas se analizan comparativamente para determinar si la causa del trastorno del crecimiento del niño se debe a la excreción patológica del calcio por los riñones.

##### Día 3

Al menos una semana después del día 2. Repetición de todo el procedimiento anterior.

Con dos relaciones con valores de la relación calcio/creatinina por encima de 2, se puede establecer que el paciente sufre de una Hipercalcemia. Otras pruebas, junto con la clínica, determinarán las causas y el diagnóstico definitivo (55).

### Condiciones

- Preferiblemente usar suero. De usarse plasma debe ser con heparina. Se debe separar el suero o plasma del coágulo, antes de transcurrir 2 horas de haberse tomado la muestra.
- Se puede efectuar la prueba con orina, parcial o de 24 horas.
- Las muestras para esta prueba deben ser recién tomadas. Pueden conservarse 7 días de 2-10 °C o más de 5 meses en el congelador, sin agregado de conservantes.

### Valores de referencia

- Suero: 8,5 - 10,5 mg/dL
- Orina: hasta 300 mg/24 h (para una dieta normal)
- Relación calcio/creatinina: hasta 0,2

### Diagnóstico

Cuando se produce una hipocalcemia a largo plazo, y ocurre desde temprana edad del paciente, pueden presentarse la osteomalacia, el raquitismo y la osteoporosis. También puede producirse calambres, por causa de tetania muscular. También, la hipocalcemia, por múltiples y complejos mecanismos, puede contribuir con el agravamiento de la hipertensión arterial, la hipercolesterolemia, el cáncer de colon y recto, etcétera.

Cuando una hipercalcemia cursa con altas concentraciones de vitamina D, esto puede favorecer una calcificación excesiva en los huesos y tejidos blandos. Asimismo, esta condición interfiere con la absorción de hierro y zinc.



Hipercalciuria es el nombre que recibe el aumento de los valores normales de calcio en orina. Si esto sucede puede sugerir, que el sujeto está en riesgo de sufrir de una litiasis renal, hiperparatiroidismo, sarcoidosis, entre otras causas.

Si por el contrario se determina hipocalciuria, esto puede estar asociado a un hipoparatiroidismo, a una deficiencia de vitamina D, o algún trastorno renal (56).

# **BIOQUÍMICA CLÍNICA**

## PARA CIENCIAS DE LA SALUD

### **REFERENCIAS**



EDICIONES **MAWIL**



1. O.M.S. (2005). *Manual de Bioseguridad en el Laboratorio* (3ra. Edición ed.). Ginebra: Organización Mundial de la Salud.
2. Moran Villator, L. (2001). *Obtención de muestras sanguíneas de calidad analítica* (Primera ed.). Mexico, DF, México: Editorial Médica Panamericana
3. Iovine, E. y. (1985). *El Laboratorio en la Clínica*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
4. Somoza N, Torà M. Seguridad biológica en la preservación y el transporte de muestras biológicas obtenidas en el ámbito de las enfermedades respiratorias y destinadas a la investigación. Archivos de Bronconeumología. April 2009, 45 (4):187-195
5. BioSystems S.A. (2018). Glucosa Oxidasa/Peroxidasa. Barcelona, Cataluña, España.
6. Guías ALAD de diagnóstico, control y tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2. VOL. XIV - N° 3 - Año 2006
7. Brunzell, C., Hardin, D., Kogler, A., Morin, A., & Schindler, T. (2015). *El Manejo de la Diabetes Relacionada con la Fibrosis Quística* (6° ed.). Maryland, USA: Cystic Fibrosis Foundation
8. Velázquez Maldonado Elsy María. Hemoglobina A1c para el diagnóstico de diabetes. Rev. Venez. Endocrinol. Metab. [Internet]. 2010 Jun [citado 2020 Feb 05] ; 8( 2 ): 35-36.
9. Morrison, K. (2008). *Laboratorio clínico y pruebas diagnóstico* (3ra. ed.). (Panamericana, Trad.) México, DF, México.
10. Baynes, J.W., Dominiczak, M.H. Bioquímica Médica. Elsevier Health Sciences. 2019. (5th. ed.). ISBN: 8491134115
11. Burtis CA, Ashwood, E.R., Bruns, D.E. (2012). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics* (5th. ed.). Elsevier Health Sciences. ISBN: 9781455759422
12. Biosystem. (Abril de 2011). Colesterol oxidasa/peroxidasa. Barce-

- lona, Cataluña, España: Biosystem S.A.
13. Gennest J, Libby P. Lipoprotein disorders and cardiovascular disease. In: Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P, eds. *Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 109th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2015 1:chap 45
  14. Chemroy. (Abril de 2015). HDL-Colesterol Procedimiento Nro. CR300. USA
  15. Parra-Ortega, I., & Jonguitud-Díaz, V. (Julio - Septiembre de 2007). La formula de Friedewald no debe ser usada para el cálculo de colesterol de baja densidad en pacientes con triglicéridos elevados. *Revista Mexicana de Patologías Clínicas.*, 54(3), 112-115
  16. Pencina MJ, Navar-Boggan AM, D'Agostino RB Sr, et al. Application of new cholesterol guidelines to a population-based sample. *N Engl J Med*. 2014;370(15):1422-1431. PMID: 24645848
  17. Adiels M, et al. Role of apolipoprotein C-III overproduction in diabetic dyslipidaemia. *Diabetes Obes Metab*. 2019;21(8):1861–1870.
  18. ELITech Clinical Systems SAS. (Enero de 2013). Triglicéridos SL. Francia.
  19. Valtuena, J.M.P, Yuste, J.R. Balcells. La clínica y el laboratorio: Interpretación de análisis y pruebas funcionales. Exploración de los síndromes. Cuadro biológico de las enfermedades. 23th. Ed. España. Elsevier Health Sciences 2019. ISBN: 9788491135241
  20. Wiener Laboratorios S.A.I.C. (julio de 2000b). Urea UV Cinetica AA. Rosario, Argentina.
  21. Wiener Laboratorios S.A.I.C. (abril de 2000a). Uremia. Rosario, Arentina
  22. Huidobro E. Juan Pablo, Tagle Rodrigo, Guzmán Ana María. Creatinina y su uso para la estimación de la velocidad de filtración glomerular. *Rev. méd. Chile* 2018; 146( 3 ): 344-350





35. Wiener Laboratorios S.A.I.C. (2000g). GPT ALT UV AA. Rosario, Argentina.
36. García Puga, Ortega Páez E. Hiperfosfatemia transitoria benigna de la infancia. *Form Act Pediatr Aten Prim.*2012;5:91-5.
37. Sánchez Rodríguez J, Soriano Suárez E, Girona Bastús R, Pérez Muñoz P, Viñets Gelada C. ¿Por qué aumentan las fosfatasas alcalinas? *Aten Primaria.* 2002;29(4):241-5.
38. LabTest. (Mayo de 2011). Fosfatasa alcalina Liquiform. Vista Alegre, Minas Gerais, Brasil.
39. Verónica Mericq. Alteraciones de las fosfatasas alcalinas en pediatría. *Medwave* 2005 Abr;5(4):e1401 doi: 10.5867/medwave.2005.04.1401
40. Brandan N., Llanos C., Barrios M. B., Escalante Marassi A. P. & Ruíz Díaz D. A. 2008. *Proteínas Plasmáticas*. Universidad Nacional del Nordeste, pp. 26.
41. Wiener Laboratorios S.A.I.C. (2000h). Proti 2. Rosario, Argentina.
42. Young, D. y. (2001). *Effects of disease on clinical laboratory tests* (4th ed.). Washintong, DC, USA: AA CC Press.
43. Tébar Massó FJ. La Diabetes en la Práctica Clínica (eBook). Ed. Médica Panamericana, 2014. ISBN: 8498355257
44. Wiener Laboratios S.A.I.C. (2001). *Amilokit*. Rosario, Argentina.
45. Wiener Laboratorios S.A.I.C. (2004). Lipasa AA. Rosario, Argentina.
46. Martínez Rodríguez R. Fundamentos teóricos y prácticos de la histoquímica. Editorial CSIC - CSIC Press, 2008. ISBN: 8400086724
47. Wiener Laboratorios S.A.I.C. (2000j). Fosfatasa Ácida Total y Prostática Cinetica. Rosario, Argentina.
48. Bustamante C. Gladys, Cuba Pardo Grover. Electrolitos. *Rev. Act.*



Clin. Med 2013;39. ISSN 2304-3768

49. Labtest Diagnostica C.A. (Octubre de 2011). Sodio Enzimático. Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil.
50. Teco Diagnostics. (agosto de 2004). Sodium Reagent Set (Colorimetric method). Anaheim, California, USA.
51. Lockless, S., Zhou, M., & MacKinnon, R. (s.f.). *Structural and thermodynamic properties of selective ion binding in a K<sup>+</sup> channel*. Mahatan, Ney York, USA: Rockefeller University.
52. Teco Diagnostics. (12 de 2001). Potassium Reagent (colorimetric method). Anaheim, California, USA.
53. Labtest Diagnostica S.A. (Junio de 2009). Cloruros. Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil.
54. BD Bejarano, I., Espino, J., González-Flores, D., Casado, J., Redondo, P., Rosado, J., y otros. (2009). Role of Calcium Signals on Hydrogen Peroxide-induced apoptosis in Human Myeloid HL-60 cells. *International Journal of Bioamedical Science*, 5(3).
55. Wiener Laboratorios S.A.I.C. (2000j). Ca-Color. Rosario, Argentina.
56. González-Lamuño, D. (2013). Hipercalciuria. *Pediatría integral*, XVII(6), 422-432.

# **BIOQUÍMICA CLÍNICA**

## ACTIVIDADES PARA EL ESTUDIANTE

### **INTRODUCCIÓN**



EDICIONES **MAWIL**



La Bioquímica Clínica es una parte fundamental en el diagnóstico de patologías generadas por desórdenes en las rutas metabólicas. Al existir alteraciones en los procesos o deficiencias enzimáticas, se desarrollan cambios en las concentraciones de biomoléculas y/o metabolitos en los diferentes fluidos corporales. La fluctuación de estos compuestos pueden ser valorados a través de los análisis de muestras biológicas de los pacientes.

Estas pruebas bioquímicas se realizan en sangre, orina, saliva, heces, sudor y líquido cefalorraquídeo, con la aplicación de técnicas químicas, enzimáticas y espectrofotométricas siguiendo buenas prácticas de laboratorio y normas de bioseguridad para asegurar la calidad de los resultados.

Los datos analíticos obtenidos en los ensayos bioquímicos complementan el examen físico realizado por el médico tratante para el diagnóstico certero de las enfermedades.

Estas actividades constituye una valiosa herramienta para el estudiante y el docente de Bioquímica práctica en el área de la salud, a través de sus diferentes ítems:

- Recordar: se presenta los puntos claves que el estudiante debe reforzar de cada tema tratado.
- En la Práctica: se incluyen recomendaciones básicas para asegurar la calidad de los resultados de las técnicas de laboratorio incluidas en el libro.
- Autotest: preguntas de verificación de los conocimientos adquiridos por el estudiante, como parte de los procesos de evaluación académica.

# BIOQUÍMICA CLÍNICA

ACTIVIDADES PARA EL ESTUDIANTE

## CAPÍTULO I

MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO  
DE BIOQUÍMICA CLÍNICA SEGÚN LA  
ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD



EDICIONES **MAWIL**



## MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha emitido un Manual de Bioseguridad en el Laboratorio (1) donde dicta las normas que deben regir la bioseguridad en los laboratorios de bioquímica clínica. Los niveles de riesgo de laboratorio están determinados por el grado de virulencia el tipo de microorganismo con el que se trabaja.

Clasificación de los microorganismos por Grupos de Riesgo según la OMS:

**Grupo de riesgo 1** (riesgo individual y poblacional escaso o nulo)

**Grupo de riesgo 2** (riesgo individual moderado, riesgo poblacional bajo)

**Grupo de riesgo 3** (riesgo individual elevado, riesgo poblacional bajo)

**Grupo de riesgo 4** (riesgo individual y poblacional elevado)

Clasificación de los laboratorios según el nivel de riesgos según la OMS:

**Básico Nivel 1** (Enseñanza básica, investigación)

**Básico Nivel 2** (Servicios de atención primaria, diagnóstico, investigación)

**Básico Nivel 3** (Diagnóstico especial, investigación)

**Básico Nivel 4** (Unidades de patógenos peligrosos)

Un laboratorio de Bioquímica clínica estaría situado en el Nivel 2, es decir, un laboratorio que presta servicios de atención primaria a una población amplia, con fines de diagnóstico.



Observaciones \_\_\_\_\_

---

---

---

Conclusiones \_\_\_\_\_

---

---

---



¿Qué determina los niveles de riesgo de laboratorio? \_\_\_\_\_

---

---

---

¿Qué niveles de laboratorio requieren uso de Cámara de Seguridad Biológica y por qué?

---

---

---

---

¿Qué es el suero sanguíneo y como se lo obtiene de manera óptima para el análisis bioquímico?

---

---

---

---

¿Cómo debe realizarse la manipulación de los desechos?

---

---

---

---





**TOMA DE MUESTRA: PUNCIÓN VENOSA**

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



La toma de la muestra de sangre se realiza mediante la punción venosa (venopunción) y debe intentar hacerse de manera rápida, eficaz, y con el menor trauma posible, no sólo para evitar el dolor excesivo al paciente, sino también para evitar la hemólisis (ruptura masiva de glóbulos rojos), considerado el principal y más común factor de interferencia para las pruebas bioquímicas.

Equipos básicos para realizar una punción venosa:

1. Algodón estéril.
2. Alcohol etílico.
3. Torniquete.
4. Gradilla.
5. Tubos.
6. Jeringas o Sistema de extracción por tubos al vacío.
7. Guardián corto punzante (Recolector para descartar agujas).
8. Venda adhesiva.
9. Marcadores.

Observaciones \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Conclusiones \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



¿Cuál es el principal y más común factor de interferencia para las pruebas bioquímicas? ¿Cómo se evita?

---

---

---

---

¿Qué es el Guardián corto punzante?

---

---

---

---

Enumere las condiciones de la toma de muestra de sangre venosa:

---

---

---

---

Mencione los criterios para rechazo de muestras.

---

---

---

---

# **BIOQUÍMICA CLÍNICA**

## ACTIVIDADES PARA EL ESTUDIANTE

### **CAPÍTULO II**

#### GLUCOSA EN SANGRE



EDICIONES **MAWIL**



## GLUCOSA EN SANGRE

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



La glucosa es la fuente de energía más importante en el cuerpo. Su nivel normal en sangre en adultos está entre 70-110 mg/dL, el cual es regulado por la acción recíproca de la Insulina y glucagón. Concentraciones elevadas de glucosa en sangre o plasma (hiperglicemia), se encuentran en la diabetes mellitus (Insulino dependiente o tipo I; y en la no insulina dependiente o tipo II); y en otras condiciones y síndromes. La hipoglicemia puede presentarse en respuesta a un ayuno prolongado, u ocasionada por medicamentos, sustancias tóxicas, trastornos metabólicos o en sujetos con gastrectomía.

Las pruebas más importantes para el monitoreo de glucosa en sangre con fines diagnóstico son: pruebas de glucosa basal, glucosa postprandial, curva de tolerancia oral a la glucosa y hemoglobina glicosilada.

En la práctica:



Se debe separar el suero lo antes posible del coágulo, debido a que la glucosa en la muestra es metabolizada por los glóbulos. Si no se realiza esto, en los glóbulos rojos se realiza la glucólisis con la reducción sustancial del nivel de la glucosa en la muestra.

Observaciones \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



Conclusiones \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



¿Qué incrementa los niveles de glucosa en sangre?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

¿Cuándo se puede presentar hipoglucemia?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

¿Cuáles son los criterios para el diagnóstico de diabetes?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

¿Cuál es la técnica más adecuada para el control de la glucemia a largo plazo en pacientes diabéticos? ¿Por qué?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

# **BIOQUÍMICA CLÍNICA**

## ACTIVIDADES PARA EL ESTUDIANTE

### **CAPÍTULO III**

#### PERFIL LIPÍDICO COLESTEROL



EDICIONES **MAWIL**



## PERFIL LIPÍDICO COLESTEROL

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



Los lípidos más comúnmente analizados en un laboratorio de bioquímica son triglicéridos, colesterol total y sus fracciones, lipoproteínas de alta densidad (HDL-colesterol), lipoproteínas de baja densidad (LDL-colesterol). Los lípidos totales elevados en sangre, se consideran predisponentes para trastornos cardiovasculares (hipertensión arterial, aterosclerosis, embolismo, infartos, entre otros) así como cerebrovasculares (isquemia, episodios cerebrovasculares, entre otros). Excepcionalmente, la elevación del HDL-colesterol, es considerada como un factor protector contra los trastornos vasculares.

El colesterol se sintetiza principalmente en el hígado y cumple un importante papel en el funcionamiento del organismo:

- Forma parte estructural de la membrana celular.
- Es precursor de las sales biliares, las hormonas esteroideas, y la vitamina D, entre otros componentes importantes del organismo.

En la práctica:



Los sueros con hemólisis visible o intensa produce valores falsamente aumentados por lo que no deben ser usados.

Observaciones \_\_\_\_\_

---

---

---



Conclusiones \_\_\_\_\_

---

---

---



¿Cuáles son los orígenes de los lípidos?

---

---

---

¿En qué condiciones disminuyen los niveles de colesterol?

---

---

---

---

¿A partir de que se produce colesterol en el organismo? Y ¿en qué cantidad se produce en el hígado?

---

---

---

---

Mencione los valores de referencia del Colesterol

---

---

---

---





**FRACCIONES DE COLESTEROL: HDL**

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



La elevación de la lipoproteína de elevada densidad (HDL-colesterol), es considerada como un factor protector contra los trastornos vasculares, siempre que esté acompañado de un régimen alimenticio sano y de ejercicios periódicos, ya que esta fracción contribuye con el transporte eficiente de los triglicéridos en el torrente sanguíneo.

En la práctica:



Para la determinación del HDL-colesterol es necesario una precipitación de las VLDL y LDL presentes en la muestra, quedando en el sobrenadante las HDL. Evitar tocar el precipitado durante la medición del sobrenadante.

Observaciones \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Conclusiones \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



¿Qué son las HDL-colesterol?

---

---

---

---

¿Por qué la elevación del HDL-colesterol es considerada como un factor protector?

---

---

---

---

¿Cuál es el objetivo reactivo de las lipoproteínas de alta densidad colesterol (HDLc)?

---

---

---

---

¿Cuáles son los valores de referencia de las HDL-colesterol?

---

---

---

---



## FRACCIONES DE COLESTEROL: LDL Y VLDL

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



Los lípidos sintetizados en el hígado son transportados como lipoproteínas para ser empleados por las células del organismo, entre ellas, las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL-colesterol) y lipoproteínas de alta densidad (HDL- colesterol).

En condiciones fisiológicas normales, las LDL se encuentran en mayor proporción (60-70%). Las HDL corresponden a un 25% y el resto, los constituyen las VLDL.

En la práctica:



Los valores de LDL se suelen calcular también de manera indirecta por un método matemático de la Fórmula de:

$$\text{Friedewald LDLc} = \text{CT} - (\text{HDLc} + \text{Tg}/5) \text{ mg/dL}$$

Es importante tener en cuenta que esta fórmula no debe usarse cuando los pacientes exhiben triglicéridos iguales o mayores a 400 mg/dL, ya que muchos estudios han demostrado que se pierde la exactitud de este cálculo matemático.

Observaciones \_\_\_\_\_

---

---

---

Conclusiones \_\_\_\_\_

---

---

---



¿Qué son lipoproteínas de baja densidad colesterol (LDL-c)?

---

---

---

---

¿Cuál es la función del LDL-colesterol?

---

---

---

---

¿Cuándo no se debe usar la fórmula de Friedewald para el cálculo matemático del LDL?

---

---

---

---

¿Cuáles son los valores de referencia de las LDL-colesterol?

---

---

---

---



## **TRIGLICERIDOS**

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



Los triglicéridos constituyen el 95% de los depósitos de grasa del organismo, y su rol principal consiste en proveer de energía a las células.

Son transportados en la sangre por los quilomicrones y por las VLDL.

Son transportados en la sangre por los quilomicrones (los absorbidos en el intestino) y por las VLDL (los sintetizados en el hígado).

Altos niveles de triglicéridos en sangre, se asocian con un riesgo importante para la aterosclerosis.

En la práctica:



Para esta determinación pueden usarse los anticoagulantes heparina, etilen diamino tetra acético (EDTA), y deben usarse tubos libres de glicerol.

Observaciones \_\_\_\_\_

---

---

---

Conclusiones \_\_\_\_\_

---

---

---



¿Cuál es el principal rol de los triglicéridos en el organismo?

---

---

---

---

¿Cómo son transportados los triglicéridos?

---

---

---

---

¿Qué puede generar niveles elevados de triglicéridos?

---

---

---

---

¿Cuáles son los valores de referencia de los triglicéridos?

---

---

---

---

# **BIOQUÍMICA CLÍNICA**

## ACTIVIDADES PARA EL ESTUDIANTE

### **CAPÍTULO IV**

#### PERFIL UREA



EDICIONES **MAWIL**



## PERFIL RENAL UREA

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



Las pruebas básicas de funcionamiento renal en bioquímica clínica están constituidas por la urea, la creatinina y el ácido úrico en sangre, las pruebas de orina rutinarias y las proteinurias (concentración de proteínas en orina).

La urea es el producto final del metabolismo proteico, se genera en el hígado y se excreta por la orina.

Concentraciones elevadas de urea, generalmente, es indicativo de algún trastorno renal. No obstante, hay factores como la dieta, el metabolismo proteico, la edad, entre otros, que contribuyen al aumento de este parámetro sin asociarse al daño renal.

En la práctica:



Para muestras de plasma usar anticoagulantes como EDTA y Heparina, no usar anticoagulantes con fluoruros porque inhiben la acción de la ureasa.

La urea en suero o plasma es estable varios días, en refrigerador; 6 meses, en congelador. En orinas de pH < 4 es estable 4-5 días en refrigerador.

Observaciones \_\_\_\_\_

---

---

---





Conclusiones \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



¿Cuáles son las pruebas básicas de funcionamiento renal en bioquímica clínica?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

¿Qué factores contribuyen al aumento de urea en sangre?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

¿Cuál es el objetivo reactivo de la determinación de urea?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

¿Cuáles son los valores de referencia de urea?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



## **CREATININA**

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



La creatinina es un compuesto altamente difusible a nivel renal, resultante del metabolismo no enzimático de la creatina y la fosfocreatina, producida a una tasa constante desde el tejido muscular esquelético, es eliminada casi en su totalidad por el riñón.

La cuantificación en sangre, así como la prueba de depuración en orina de 24 horas, se consideran los parámetros fundamentales para el diagnóstico de los trastornos renales.

En la práctica:



Los sueros obtenidos por métodos estándar, deben ser separados de los glóbulos rojos tan pronto como sea posible, o al menos antes de las 2 horas después de la extracción de sangre.

Evitar muestras hemolizadas y sueros muy ictericos

Observaciones \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Conclusiones \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



¿Qué es la creatinina? ¿Cómo se produce en el organismo?

---

---

---

---

¿Cuáles son los parámetros fundamentales para el diagnóstico de los trastornos renales?

---

---

---

---

---

¿Cuál es el objetivo preventivo de la determinación de creatinina?

---

---

---

---

---

¿Cuáles son los valores de referencia de creatinina?

---

---

---

---

---



## ÁCIDO URICO

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



En el ser humano, el ácido úrico es el producto final del catabolismo de las bases púricas que forman parte de los ácidos nucleicos, principalmente la adenina y la guanina. La fuente endógena de ácido úrico está dada por la degradación de los tejidos propios del organismo. La fuente exógena, está determinada por la dieta.

Una gran parte del ácido úrico se elimina por la orina (600-900 mg/día), una dieta rica en nucleoproteínas (por ejemplo, las carnes) la excreción puede llegar a 1500-2000 mg/día. Cuando la ingesta de nucleoproteínas sobrepasa los límites de filtración renal para el ácido úrico, éste precipita y cristaliza. Cuando cristaliza en el parénquima renal, se producen litiasis renales importantes. También puede precipitar en las articulaciones de los miembros inferiores, generando la enfermedad llamada gota.

En la práctica:



Únicamente usar EDTA o Heparina en la toma de la muestra. Evitar muestras hemolizadas

Observaciones \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



Conclusiones \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



¿Qué es el ácido úrico? ¿Cómo se produce en el organismo?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

¿Cómo se produce litiasis renales y enfermedad llamada gota?  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

¿Cuál es el propósito de control de la determinación de ácido úrico?  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

¿Cuáles son los valores de referencia de ácido úrico?  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

# **BIOQUÍMICA CLÍNICA**

## ACTIVIDADES PARA EL ESTUDIANTE

### **CAPÍTULO V**

#### PERFIL HEPÁTICO



EDICIONES **MAWIL**



## PERFIL HEPÁTICO

### BILIRRUBINA

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



Este perfil está constituido por pruebas que indican trastornos hepáticos como hepatitis viral, hepatitis tóxica, cirrosis, hiperplasias, entre otros.

Está constituido por las enzimas transaminasas (TGO, TGP, GGT), la fosfatasa alcalina, la bilirrubina y sus fracciones directa e indirecta, y las proteínas totales junto con sus fracciones, albumina y globulinas. La bilirrubina es un compuesto de desecho que surge de la degradación de la hemoglobina luego de la muerte natural de los eritrocitos, al cumplir su vida útil.

Al efectuar mediciones de la bilirrubina, esta deberá determinarse en sus formas: Total, Directa e Indirecta.

Bilirrubina indirecta no conjugada: unida a la albúmina.

Bilirrubina directa o conjugada con el ácido glucurónico.

Bilirrubina total: suma la bilirrubina conjugada y la no conjugada.

En la práctica:



Suero o plasma obtenidos de la manera convencional. Una vez separado del coágulo, proteger de la luz, para evitar la degradación de la bilirrubina. La luz es capaz de degradar hasta un 50% de la bilirrubina presente, en tan sólo una hora.



Observaciones \_\_\_\_\_

---

---

---

Conclusiones \_\_\_\_\_

---

---

---



¿Qué es la bilirrubina?

---

---

---

---

Explique cómo se excreta la bilirrubina.

---

---

---

---

¿Qué puede provocar elevaciones de bilirrubina en sangre?

---

---

---

---

¿En qué consiste la anemia hemolítica del recién nacido?

---

---

---

---





## TRANSAMINASAS

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



Las Transaminasas son enzimas tipo transferasas, o sea que pueden transferir grupos amino desde un compuesto orgánico a otro, por lo general entre aminoácidos. Los nombres de cada transaminasa vienen dados por el aminoácido desde el cual se transfiere el grupo amino. Las transaminasas de interés bioquímico son la TGO y la TGP.

TGP o transaminasa glutámico-pirúvica, también llamada alanina aminotransferasa (ALT), se encuentra principalmente en el citoplasma del hepatocito.

TGO o transaminasa glutámica oxalacética, también llamada aspartato aminotransferasa (AST), se localiza tanto en el citoplasma como en la mitocondria. No sólo se encuentra en hígado, sino también en el miocardio, el músculo esquelético, los riñones, el cerebro, el páncreas, el pulmón, los leucocitos y los eritrocitos.

La elevación de las transaminasas, con frecuencia, se asocia con rupturas de las membranas de los hepatocitos por muerte celular ya que, esto, libera a estas enzimas a la circulación.

En la práctica:



Las transaminasas son viables en suero por un máximo de 5 días entre 2-4 °C en el refrigerador.



Observaciones \_\_\_\_\_

---

---

---

Conclusiones \_\_\_\_\_

---

---

---



¿Qué función cumplen las transaminasas?

---

---

---

---

¿Dónde se localiza la TGO o transaminasa glutámica oxalacética?

---

---

---

---

¿Por qué se considera que la TGP es mucho más específica del hígado que la TGO?

---

---

---

---

¿La elevación de qué transaminasa indica un daño muscular agudo?

---

---

---

---



## FOSFATASA ALCALINA

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



Fosfatasa alcalina o ALP (por sus siglas en inglés), es una enzima hidrolasa responsable de eliminar grupos fosfatos de diversos tipos de compuestos como los nucleótidos, las proteínas, entre otras. Se encuentra en casi todos los tejidos del cuerpo, presentando sus mayores concentraciones en el hígado, los huesos, el riñón y el intestino.

En condiciones fisiológicas normales es común encontrar aumentos en niños, mujeres embarazadas y ancianos. En los niños, por tener los procesos osteoblásticos activos, por el contrario, en el embarazo y en los ancianos se debe al aumento de los procesos osteoclastos.

En la práctica:



Pacientes con al menos ocho horas de ayuno.

Evitar muestras con hemólisis, ictericia y lipemia intensa.

Viabilidad de suero o plasma estable por 7 días en refrigerador.

Almacenamiento a temperatura ambiente produce resultados falsamente elevados.

Observaciones \_\_\_\_\_

---

---

---

Conclusiones \_\_\_\_\_

---

---

---



¿Qué función cumplen la fosfatasa alcalina?

---

---

---

---

¿Por qué en condiciones fisiológicas se produce una elevación fosfatasa alcalina en niños, mujeres embarazadas y ancianos?

---

---

---

---

¿Qué enfermedades producen aumento de la fosfatasa alcalina?

---

---

---

---

Mencione los valores de referencia de la fosfatasa alcalina.

---

---

---

---



## **PROTEINAS SANGUÍNEAS**

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



Las proteínas son compuestos orgánicos macromoleculares, fundamentales para la vida y presentes en todo el organismo. Cumplen funciones estructurales (en membranas, estructuras de hormonas, enzimas y anticuerpos) y de transporte; y una gama inmensa de funciones.

Se producen disminuciones de las proteínas en sangre, en condiciones como pérdidas renales, desnutrición, infecciones, entre otras. Las hiperproteinemias, se producen en casos como mieloma múltiple, endocarditis bacteriana y hemoconcentraciones, entre otras; sin embargo, los aumentos anormales de albúmina son ocasionales y se relacionan casi siempre con deshidratación.

En la práctica:



La hemólisis, la ictericia y la lipemia, leves, no afectan los ensayos.

El suero se conserva por 3 días de 2-10 °C o 1 semana en refrigerador

Observaciones \_\_\_\_\_

---

---

---

Conclusiones \_\_\_\_\_

---

---

---



¿Qué función cumplen las proteínas en el organismo?

---

---

---

---

¿En qué condiciones se producen disminuciones de las proteínas en sangre?

---

---

---

---

¿En qué condiciones se producen hiperproteinemias?

---

---

---

---

¿Cuál es el valor de referencia para proteínas en sangre?

---

---

---

---



## ALBUMINA

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



La proteína más abundante en plasma es la albúmina cuya función principal es la de transportar diferentes tipos de moléculas y compuestos a lo largo del organismo. También contribuye con la manutención de la presión coloidosmótica en la sangre.

La hipoalbuminemia puede indicar un daño hepático crónico como cirrosis hepática de larga data, y también problemas renales como síndrome nefrótico o insuficiencia renal crónica. Otras enfermedades crónicas producen disminuciones de la albúmina en sangre, por ejemplo, neoplasias, insuficiencia cardiaca, enfermedades intestinales (malabsorción), entre otras.

En la práctica:



La hemolisis, la ictericia y la lipemia, leves, no afectan los ensayos. El suero se conserva por 3 días a 2-10 °C o 1 semana en refrigeración.

Observaciones \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Conclusiones \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



¿Qué función cumple la albúmina?

---

---

---

---

¿Por qué la albúmina es un excelente marcador de la función hepática?

---

---

---

---

¿En qué condiciones se producen hipoalbuminemia?

---

---

---

---

¿Cuál es el valor de referencia para albúmina en sangre?

---

---

---

---



# **BIOQUÍMICA CLÍNICA**

## ACTIVIDADES PARA EL ESTUDIANTE

### **CAPÍTULO VI**

#### ENZIMAS



EDICIONES **MAWIL**



**ENZIMAS  
AMILASA**

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



Las amilasas son enzimas del tipo hidrolasa, producidas, en menor cantidad en las glándulas salivales, y en mayor cantidad, en el páncreas; que tienen como función catalizar las reacciones de hidrólisis del almidón para formar azúcares digeribles e incluso glucosa libre.

Cuando alguna de las glándulas secretoras de amilasas se inflama, como en la parotiditis o en la pancreatitis; como consecuencia, aumenta la producción de amilasas y aparece elevado su nivel en sangre (amilasemia). La insuficiencia renal también puede contribuir con el aumento de la amilasa en sangre, ya que se reduce su excreción por este órgano. La amilasa se considera un marcador importante de la función pancreática, ya que se eleva o disminuye con la hipertrofia de este, o con la disminución de sus funciones.

En la práctica:



Es recomendable procesar la muestra a las pocas horas de haber sido tomada. Sin embargo, pueden conservarse hasta por una semana bajo 2-10 °C.

Los anticoagulantes citratos y oxalatos inhiben la actividad de la amilasa

Observaciones \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



Conclusiones \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



¿Qué función cumplen la amilasa?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

En qué condiciones se elevan los niveles de amilasa en sangre?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

¿Por qué se considera la amilasa como un marcador importante de la función pancreática?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

¿Cuáles son los valores de referencia de la amilasa?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



## LIPASA

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



La lipasa es una enzima, producida por el páncreas, cuya función es separar las grandes moléculas de grasa que se ingieren en la dieta, de tal forma que se puedan absorber con facilidad. Esto lo hace, catalizando la hidrólisis de los triglicéridos para llevarlos a glicerol y ácidos grasos libres.

La cuantificación de la actividad de la lipasa se usa para diagnosticar enfermedades como pancreatitis aguda y la obstrucción del conducto pancreático. El diagnóstico debe consolidarse con la clínica del paciente y otras pruebas de laboratorio. Otras afecciones en las cuales se incrementa la actividad de lipasa incluyen intoxicación aguda con alcohol y traumatismos accidentales o quirúrgicos del abdomen.

En la práctica:



La lipasa en suero o plasma es estable 8 días bajo 2-10°C) y hasta 12 meses a -20°C.

Observaciones \_\_\_\_\_

---

---

---

Conclusiones \_\_\_\_\_

---

---

---



¿Qué función cumplen la lipasa?

---

---

---

---

¿Para qué se utiliza la cuantificación de la actividad de la lipasa?

---

---

---

---

¿Cuándo se eleva los niveles de actividad de la lipasa en sangre?

---

---

---

---

¿Cuál es el valor de referencia de la lipasa?

---

---

---

---



## FOSFATASA ÁCIDA TOTAL Y PROSTÁTICA

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



Las fosfatasas ácidas están presentes en gran parte de los tejidos del organismo, siendo particularmente altas en la próstata, el estómago, el hígado, los músculos, el bazo, los eritrocitos y las plaquetas. Su principal función consiste en escindir los grupos fosfatos ligados a diferentes moléculas. Se encuentra almacenada en los lisosomas y se activa cuando estos se unen a los endosomas, los cuales tienen un pH ácido. Es por esto que su óptima actividad se desarrolle en medios ácidos.

La fosfatasa ácida prostática constituye es un indicador precoz importante para diagnosticar el cáncer de próstata.

Altas concentraciones de Fosfatasa ácida total se asocian a algunas enfermedades hematológicas como leucemia mielocítica, trombocitopenia idiopática; y óseas como enfermedad de Paget, carcinoma óseo; así como en algunos tipos de cáncer, enfermedades hepáticas.

En la práctica:



Para prevenir la inactivación de la enzima, puede agregarse al suero, 50 µl de ácido acético 0,7 mol/l por cada mililitro de suero.

En estas condiciones puede permanecer viable durante varios días bajo 2-10 °C.

Observaciones \_\_\_\_\_

---

---

---

---



Conclusiones \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



¿Qué función cumplen las fosfatasas ácidas?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

¿Dónde se encuentran las fosfatasas ácidas en el organismo?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

¿Con que se asocia las altas concentraciones de Fosfatasa ácida total?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

¿Cuál es los valores de referencia de las fosfatasas ácidas?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

# **BIOQUÍMICA CLÍNICA**

## ACTIVIDADES PARA EL ESTUDIANTE

### **CAPÍTULO VII**

#### ELECTROLITOS



EDICIONES **MAWIL**





## ELECTROLITOS

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



Los electrólitos son elementos ionizados que se encuentran disueltos en la sangre y otros líquidos del organismo. Los electrólitos comunes incluyen: el calcio, el cloro, el magnesio, el fósforo, el potasio, y el sodio. Cumplen diversas funciones, como mantener la osmolaridad plasmática normal, los gradientes de concentración entre los medios intra y extra celular que permiten la osmosis y la difusión de los solutos a estos compartimientos; mantienen el equilibrio ácido-base; participan en la contracción muscular y en la creación de los potenciales de acción de las células nerviosas.

Tanto el aumento, como la disminución de los electrolitos, en condiciones patológicas, producen daños al organismo que pueden ir desde leves y transitorios (convulsiones) hasta graves e irreversibles (daño cerebral), en incluso la muerte; ocasionados, básicamente, por la pérdida del equilibrio ácido base y el aumento o disminución de la osmolaridad plasmática.

En la práctica:



Los electrolitos también pueden ser medidos en orina con el fin de evaluar la filtración y reabsorción renal mediante pruebas específicas de estos solutos, o bien, para compararlo con los niveles en sangre, y determinar la causa de su aumento o disminución.

Observaciones \_\_\_\_\_

---

---

---

---



Conclusiones \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



¿Qué función cumplen los electrolitos?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

¿Qué puede producir la disminución en la concentración normal de electrolitos en sangre?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

¿Qué puede elevar la concentración normal de electrolitos en sangre?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

¿Que consecuencia pueden generar el aumento o disminución de los electrolitos, en condiciones patológicas?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



## SODIO

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



En el cuerpo humano, el catión sodio ( $\text{Na}^+$ ) juega un rol importante en el metabolismo celular, con las despolarizaciones de las células sensitivas. Contribuye con la osmolaridad plasmática y participa, además, en la contracción muscular, el equilibrio ácido-base y la absorción de nutrientes por las membranas.

Al aumento de sodio en la sangre se le conoce como hipernatremia y su disminución hiponatremia.

La alteración de los valores del sodio suele asociarse a pérdidas electrolíticas por deshidratación en vómitos, diarreas, y sudoración profusa; en disfunciones renales, trastornos asociados a la aldosterona, y otros problemas metabólicos.

En la práctica:



Analito estable por 7 días en refrigeración, y 12 meses a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Evitar muestras fuertemente hemolizadas, ictericas o lipémicas.

Observaciones \_\_\_\_\_

---

---

---

Conclusiones \_\_\_\_\_

---

---

---



¿Qué función cumplen el sodio en el organismo?

---

---

---

---

¿A qué se asocia la alteración de los valores del sodio?

---

---

---

---

¿Por qué se produce hipernatremia?

---

---

---

---

¿Cuáles son los valores de referencia del sodio?

---

---

---

---



## POTASIO

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



El potasio es el catión presente en mayor concentración en el medio intracelular del cuerpo humano. Entre sus funciones, participa en el equilibrio osmótico y el equilibrio ácido-base, involucrado en las contracciones musculares en la transmisión del impulso nervioso mediante los potenciales de acción celulares.

Disminución en las concentraciones de potasio sérico (hipokalemia) puede producir daños orgánicos importantes que pueden llegar a conducir a la muerte. Las causas más comunes son: diarrea, diuresis elevada, vómitos y deshidratación. Observar los rasgos clínicos como: debilidad muscular, fatiga, astenia, calambres, íleo, estreñimiento, arritmias cardíacas, parálisis respiratorias y alcalosis.

La hiperkalemia, es un trastorno electrolítico grave, y se debe, comúnmente a: aumento del ingreso al cuerpo por vía oral o parenteral, insuficiencia renal. Los principales signos clínicos son: parestesias, debilidad, insuficiencia respiratoria, náuseas, vómitos, arritmias ventriculares y paro cardíaco.

En la práctica:



Analito estable por 14 días en refrigeración.

Evitar muestras fuertemente hemolizadas, ictéricas o lipémicas.



Observaciones \_\_\_\_\_

---

---

---

Conclusiones \_\_\_\_\_

---

---

---



¿Qué función cumplen el potasio en el organismo?

---

---

---

---

¿Qué causa la hipokalemia?

---

---

---

---

¿Qué produce la hiperkalemia?

---

---

---

---

¿Cuáles son los valores de referencia del potasio?

---

---

---

---



## CLORO

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



El cloro es un tipo de electrolito, que en el organismo se encuentra en su forma molecular denominada cloruro. A igual que los otros electrolitos, el cloro, con su carga eléctrica negativa, contribuye con el balance osmótico y el equilibrio ácido-base del organismo.

El cloro por lo general se mide junto con el sodio y el potasio para el despistaje de trastornos de salud como las enfermedades del hígado o del riñón, la insuficiencia cardíaca y la hipertensión arterial

En la práctica:



El analito cloruro ( $\text{Cl}^-$ ) es estable por 7 días bajo refrigeración. Y por 6 meses a  $-10^\circ\text{C}$ .

Evitar muestras fuertemente hemolizadas, ictericas o lipémicas

Observaciones \_\_\_\_\_

---

---

---

Conclusiones \_\_\_\_\_

---

---

---



¿Qué función cumplen el cloruro en el organismo?

---

---

---

---

¿Por qué se produce hipercloremia?

---

---

---

---

¿Por qué se produce hipocloremia?

---

---

---

---

¿Cuáles son los valores de referencia del cloro?

---

---

---

---





## CALCIO

Nombre: \_\_\_\_\_

Paralelo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



El Calcio forma parte esencial en la estructura de huesos y dientes, cumple funciones metabólicas como cofactor, regulación enzimática, influye sobre la función de transporte de las membranas celulares, juega un papel crucial en la liberación de neurotransmisores y en la regulación de la frecuencia cardíaca.

El calcio sérico está constituido por de tres fracciones: el calcio iónico, conocido como inorgánico; el calcio anicónico, unido a los fosfatos; y el calcio ligado a proteínas (albúmina, globulina, y enzimas). El calcio iónico es el que realiza la mayoría de funciones metabólicas.

Las concentraciones de calcio en el organismo están controladas fundamentalmente por la parathormona, la calcitonina y la vitamina D

En la práctica:



Las muestras para esta prueba deben ser recién tomadas. Pueden conservarse 7 días de 2-10 °C o más de 5 meses en el congelador, sin agregado de conservadores.

Observaciones \_\_\_\_\_

---

---

---

Conclusiones \_\_\_\_\_

---

---



¿Qué función cumplen el calcio en el organismo?

---

---

---

---

¿Qué consecuencia puede ocurrir cuando una hipercalcemia cursa con altas concentraciones de vitamina D?

---

---

---

---

---

---

¿Qué puede generar una hipocalcemia a largo plazo en el paciente?

---

---

---

---

---

---

¿Cuáles son los valores de referencia del calcio?

---

---

---

---

---

---

# BIOQUÍMICA CLÍNICA

## PARA CIENCIAS DE LA SALUD



Publicado en Ecuador  
Febrero 2021

Edición realizada desde marzo 2020 hasta  
enero del año 2021, en los talleres Editoriales de MAWIL  
publicaciones impresas y digitales de la ciudad de Quito

Quito – Ecuador

Tiraje 50, Ejemplares, A5, 4 colores; Offset MBO  
Tipografía: Helvetica LT Std; Bebas Neue; Times New Roman; en  
tipo fuente.

# BIOQUÍMICA CLÍNICA

## PARA CIENCIAS DE LA SALUD

1<sup>RA</sup> EDICIÓN

### AUTORES



Q. F. Nancy Azucena  
Sorroza Rojas M. Sc.



Q. F. Homero Enrique  
Jinez Jinez M. Sc.



Dra. Lidia Dayana  
Jinez Sorroza



Q. F. Bolívar Enrique  
Jinez Sorroza



Q. F. Dolores Beatriz  
Erazo López M. Sc.



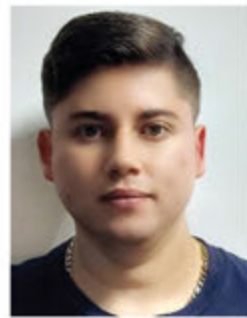
B. Q. F. Diana Haydée  
Serafín Alvarez M. Sc.



Q. F. Maria Magdalena  
Aray Andrade M. Sc.



Blga. Nancy Violeta  
Cajas Flores M. Sc.



Est. Jesús Eliecer  
Rodríguez Villacis



Est. Jean Pool  
Jinez Sorroza

ISBN: 978-9942-826-68-8



9 789942 826688