



CORPORACIÓN UNIVERSITARIA
RAFAEL NÚÑEZ
PARA QUE TU DESARROLLO CONTINÚE SU MARCHA

GUÍA DE LABORATORIO BIOQUÍMICA CLÍNICA. IV SEMESTRE.

Consuelo Roldán Menco.
Bacterióloga Msc Bioquímica Clínica.

Facultad de Ciencias de la Salud

Programa de Bacteriología





© **Corporación Universitaria Rafael Núñez**
Institución Universitaria | Vigilada Mineducación
2018
Hecho en Colombia

Rector
Miguel Ángel Henríquez López

Vicerrector General
Miguel Henríquez Emiliani

Vicerrectora Académica
Patricia De Moya Carazo

Vicerrector Administrativo y Financiero
Nicolás Arrázola Merlano

Directora Institucional de la Calidad
Rosario López Guerrero

Directora de Investigación
Judith Herrera Hernández

Directora programa de Bacteriología
Rosana de la Torre Barboza

Director de Biblioteca Miguel Henríquez Castañeda-Cartagena
Luis Fernando Rodríguez L.

Revisión técnica disciplinar
Elayne Flórez Julio
Eliana Buelvas Pereira

Revisión y corrección de estilo
Zarina Durango Herazo
Raúl Padrón Villafañe

Autor
Consuelo Roldán Menco



TABLA DE CONTENIDO

Presentación.....	4
Normas generales de Bioseguridad en el Laboratorio	5
Plan de Trabajo del estudiante.....	6
Materiales para todas las clases.....	6
Práctica N° 1: valores de referencia.....	7
Práctica N° 2: control de calidad.....	11
Práctica N° 3: cuantificación de la Actividad Enzimática.....	15
Práctica N° 4: cuantificación de proteínas.....	19
Práctica N° 5: cuantificación de Ácido Úrico.....	22
Práctica N° 6: cuantificación de glucosa y hemoglobina glicosilada.....	24
Práctica N° 7: perfil lipídico.....	27
Práctica N° 8: pruebas para la valoración del metabolismo del Hierro.....	32
Práctica N° 9: perfil cardiaco.....	35
INSERTOS (TÉCNICAS PROPOCIONADAS POR CASAS COMERCIALES PARA CADA UNA DE LAS PRUEBAS REALIZADAS EN CADA LABORATORIO)	



PRESENTACIÓN

El laboratorio de bioquímica clínica comprende un conjunto de pruebas, que agrupadas en perfiles, sirven para el diagnóstico, seguimiento, y pronóstico de la enfermedad de un paciente. En este sentido, al ser estas pruebas centrales para el correcto tratamiento de un paciente, este laboratorio permite desarrollar en el futuro profesional del laboratorio clínico habilidades teóricas y procedimentales, es decir, el saber y el saber hacer propio de su profesión, que junto con el desarrollo de su ser le permitirán desempeñarse en su contexto de acuerdo con la relevancia que reviste su perfil ocupacional en el área clínica.

Por otro lado, el laboratorio de bioquímica clínica aplica todos los conocimientos aprendidos por el estudiante de bacteriología en las áreas de química general y análisis instrumental, para llegar a éste, donde se sintetizan y ponen en práctica todas las competencias adquiridas a lo largo de cuatro semestres, en la realización e interpretación de pruebas químicas y bioquímicas al servicio del laboratorio clínico. Proporcionar a los estudiantes de bacteriología conceptos teórico-prácticos básicos de bioquímica clínica, es tarea fundamental para la comprensión y correlación de las pruebas realizadas en el laboratorio clínico a muestras biológicas bajo estrictas normas de calidad, para el diagnóstico, tratamiento y prevención de las enfermedades al tiempo que le permiten interactuar con otros profesionales de la salud. Los principales logros que deben alcanzar los estudiantes para lograr este gran objetivo se pueden resumir de la siguiente manera:

- Interpretar los valores de referencia dados con cada prueba para la identificación de las patologías asociadas, así como el montaje del control de calidad interno y toma de decisiones.
- Comprender las bases teóricas y la utilidad clínica de las pruebas químicas y bioquímicas realizadas por el laboratorio clínico.
- Desarrollar habilidades procedimentales en los estudiantes que les permita realizar pruebas químicas y bioquímicas del laboratorio clínico con criterios de calidad.
- Desarrollar en los estudiantes habilidades de pensamientos argumentativos e interpretativos que les permita correlacionar los resultados de las diferentes pruebas de laboratorio con los procesos patológicos del paciente.
- Dominar un lenguaje científico que le permitan interactuar con los diferentes profesionales de la salud



NORMAS GENERALES DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO.

- Utilizar siempre los elementos de barrera de protección apropiados según las necesidades: bata, gorro, guantes, tapabocas y gafas etc. Nunca circular con ropa de calle y/o cambiarse de ropa dentro del laboratorio.
- Siempre respetar las señalizaciones de bioseguridad.
- Reportar siempre a su docente los accidentes ocurridos en el Laboratorio.
- Lávese las manos vigorosamente antes y después de efectuar un procedimiento.
- Los elementos cortopunzantes como agujas, lancetas y otros, deben ser desechados con precauciones para evitar lesiones (utilice siempre el guardián).
- Si padece lesiones exudativas o dermatitis debe evitar el contacto con los pacientes y con los equipos de trabajo, hasta que estas sanen.
- Utilice siempre dispositivos de pipeteo mecánico en el manejo de líquidos y reactivos, nunca bucal.
- Absténgase de comer, beber o fumar en el laboratorio.
- Es responsabilidad de cada estudiante el manejo del reactivo al que tenga acceso, conozca todos los símbolos de riesgo para el manejo de las sustancias.
- En caso de derrames, neutralice, desinfecte y luego limpie el derrame con un material absorbente.
- Nunca debe esterilizar material limpio con contaminado.
- Utilizar adecuadamente los equipos y proporcionarles un mantenimiento conveniente y permanente, si un equipo se contamina con una muestra biológica, deberá ser descontaminado con hipoclorito de sodio al 7%, y luego limpiarlo de acuerdo con las especificaciones del fabricante.
- En caso de rompimiento de un tubo o derrame en la centrifuga, apáguela inmediatamente y espere treinta minutos antes de abrirla para evitar la formación de aerosoles.
- Al inicio y al final de una práctica de laboratorio, o después de salpicaduras con sangre u otros líquidos corporales, las superficies de las mesas deberán ser descontaminadas con una solución de hipoclorito de sodio al 7%.
- Todo material contaminado deberá ser eliminado en bolsa roja.



PLAN DE TRABAJO DEL ESTUDIANTE

1. Previamente a la práctica, lea los procedimientos que se va a realizar y prepare todos los aspectos teóricos correspondientes, y los materiales y/o muestras necesarias para la ejecución de la misma.
2. Anote cuidadosamente sus resultados: el examen de la práctica, no solo se limitará a la información proporcionada por el manual o el docente sino también por sus propias observaciones, investigación y deducciones.
3. Asegúrese que la superficie del mesón esté limpia y seca antes de comenzar la práctica.
4. En la mesa de trabajo solo debe estar el material necesario para la realización de la práctica. Debe estar limpio y ordenado.
5. Asegúrese de marcar adecuadamente los tubos.
6. Practique varias veces el procedimiento y en caso de dudas preguntar a su docente.
7. Anote y/o dibuje todo los fenómenos observados y los resultados obtenidos para una mejor realización del informe de laboratorio.
8. Al terminar limpie la zona de trabajo descartando el material que no necesite. Descarte los materiales usados en los sitios destinados para esto. No deje material contaminado en las mesas de trabajo al finalizar la práctica.
9. Siempre utilice todas las normas de bioseguridad.

MATERIALES PARA TODAS LAS CLASES

1. Lápiz de cera o marcador cristalográfico.
2. Guantes desechables.
3. Mascarilla o tapabocas.
4. Gafas de protección.
5. Toalla pequeña.
6. Muestra solicitada.
7. Papel absorbente.
8. Guías de laboratorio previamente estudiadas.
9. Folder. Tema y # de la práctica a desarrollar, objetivos, materiales, procedimiento, resultados (dibujos), conclusión personal y desarrollo de talleres.
10. Papel logarítmico, lápiz, borrador, sacapuntas, calculadora.

INDISPENSABLES EN TODOS LOS LABORATORIOS



PRÁCTICA N°1: VALORES DE REFERENCIA

I. INTRODUCCIÓN

En todos los laboratorios clínicos del mundo cada día se realizan cientos de determinaciones de magnitudes bioquímicas, originando resultados que no tienen valor por sí mismos y que sólo cuando se comparan con otros datos se convierten en información con utilidad diagnóstica. El actuar de los laboratorios clínicos supone entonces obtener valores de referencia con los que se comparen los valores observados en los pacientes.

Los profesionales del laboratorio clínico deben establecer valores de referencia para los diferentes analitos que cuantifican en el laboratorio a fin de poder comparar los resultados de la muestra del paciente, con valores de referencia obtenidos de muestras poblacionales con características fisiológicas, genéticas, ambientales, culturales y técnicas similares.

La Federación Internacional de Química Clínica (IFCI) recomienda la metodología para la determinación de valores de referencia que parte de la etapa de selección y registro de los individuos sanos de referencia, seguida de la aplicación de los protocolos pre-analíticos y analíticos, para finalizar con el tratamiento estadístico de los resultados, para obtener el intervalo de referencia con un nivel de confianza de 95%.

II. OBJETIVOS

GENERAL

Determinar valores de referencia con el 95% de confianza mediante estadísticas paramétricas recomendadas por la Federación Internacional de Química Clínica (IFCI).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la desviación estándar y la media de los datos estudiados.
- Determinar los límites de referencia de los datos estudiados.



III. MÉTODO

Prueba enzimática colorimétrica.

IV. FUNDAMENTO

El método de la glucosa se basa en la oxidación de la misma, por la enzima glucosa oxidasa, reacción en la que se consume oxígeno (O_2) y se genera agua oxigenada ($H_2 O_2$), se genera un complejo coloreado que se cuantifica por espectrofotometría.

V. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

- Kit Colesterol, kit glucosa.
- Solución estándar de cada uno de los kits anteriores.
- Espectrofotómetro UV- Visible.
- Micropipetas de 5 a 25 μ l, de 50 a 200 μ l y de 200 a 1000 μ l.
- Cubetas plásticas.
- Tubos de ensayo de 5 ml y gradillas.
- Puntas amarillas y azules.

VI. MUESTRA

- Suero o plasma.

VII. PROCEDIMIENTO

- Realizar el montaje correspondiente, según el analito a procesar (**Ver inserto**).
- Ordenar los datos de mayor a menor (**anexo 1**).
- Eliminar los datos aberrantes aplicando el coeficiente de Dixon.
- Calcular la media de los datos.
- Calcular la desviación estándar.
- Calcular el intervalo de confianza con el 95% de confianza.



VIII. TALLER

Una vez cumplido con el procedimiento del laboratorio, se realizará un trabajo escrito, el cual constará de los siguientes puntos:

Especificaciones analíticas (características del equipo utilizado, tipo de programación, fundamento del método, filtro (región), tipo y condiciones de la muestra).

Características poblacionales (edad, genero, porcentajes de masculinos, porcentajes de femenino).

Explique:

- ¿Por qué no es correcto utilizar los valores de referencia que suministran las casas comerciales?
- Explique las variables que pueden afectar los valores de referencia entre dos poblaciones distintas.
- Conclusiones.



ANEXO 1

DETERMINACION DE VALORES ABERRANTES (MÉTODO DE DIXON)			
ANALITO: _____		LOTE: _____	
ANALISTA: _____.			
DATO (X _i)	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$	
			<p>• APLICACIÓN DEL FILTRO DIXON:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Se arreglan ordenadamente de mayor a menor todos los datos 2. Al mayor valor se le designa como X_N y al que le sigue X_{N-1} 3. Al menor valor se le designa como X₁ y al que le sigue como X₂ 4. EL MAYOR VALOR ES ABERRANTE SI: X_N - X_{N-1} es mayor que (X_N - X₁) / 3. 5. EL MENOR VALOR ES ABERRANTE SI: X₂ - X₁ es mayor que (X_N - X₁) / 3. X₂ - X₁ MAYOR (X_n - X₁) / 3 <p>PROCEDIMIENTO ESTADÍSTICO</p> <p>6. media: $\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n}$</p> <p>Media o promedio es una medida de tendencia central.</p> <p>7. $(x_i - \bar{x})$</p> <p>8. $(x_i - \bar{x})^2$</p> <p>9. $s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (X_i - \bar{X})^2}{N - 1}}$</p> <p>La desviación estándar: Permite interpretar el comportamiento de los datos.</p> <p>EL intervalo de confianza: Al valor de la media le sumamos dos desviaciones estándar, a la media le restamos dos desviaciones estándar. 95%</p>



PRÁCTICA Nº 2: CONTROL DE CALIDAD

I. INTRODUCCIÓN

La calidad es un concepto que está inmerso en todas las actividades humanas, los productos y servicios que se ofrecen a la sociedad están enmarcados en parámetros legales que regulan su calidad a fin de satisfacer las necesidades del cliente o usuario.

En un sentido más amplio, la calidad se define como el conjunto de atributos o características que poseen los productos o servicios y que satisfacen las necesidades del cliente o usuario del servicio.

Los laboratorios clínicos, como entidades prestadoras de servicios relacionados con la salud de las personas, tienen que ofrecer a sus usuarios información clínica de gran calidad que se convierta en una herramienta verdaderamente útil para el diagnóstico, pronóstico, tratamiento y prevención de las enfermedades que afectan a los usuarios del servicio.

Para garantizar la calidad del servicio, se han diseñados dos estrategias que son complementarias entre sí: el control de calidad **interno** y el control de calidad **externo**. Estas estrategias tienen como objetivo central controlar los diferentes tipos de errores analíticos que pueden afectar de forma significativa la precisión y exactitud de los resultados.

El control de **calidad interno** se fundamenta en la determinación diaria de un analito de sueros controles para garantizar la reproducibilidad o precisión del procedimiento de medida, es una estrategia ejecutada por el mismo laboratorio. Mientras que el control de **calidad externo** apunta al control de concordancia entre un valor esperado y el valor hallado por el laboratorio, monitorea la exactitud del resultado y la presencia de errores sistemáticos, es una estrategia ejecutada por entidades externas al laboratorio.



II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Aplicar mediante un taller los conceptos adquiridos en clase para el control interno de la calidad en el laboratorio clínico.

Realizar el montaje del control interno, y determinar el procedimiento estadístico debido.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la media y la desviación estándar de los datos de control de calidad interno.
- Realizar las gráficas de Levey-Jennings para los datos de control.
- Aplicar las reglas de Westgard para los datos de control.

III. MÉTODO

Prueba enzimática colorimétrica para glucosa.

IV. FUNDAMENTO

El método de la glucosa se basa en la oxidación de la misma, por la enzima glucosa oxidasa, reacción en la que se consume oxígeno (O₂) y se genera agua oxigenada (H₂O₂), se genera un complejo coloreado que se cuantifica por espectrofotometría.

V. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

- Kit Colesterol, kit glucosa.
- Solución estándar de cada uno de los kits anteriores.
- Espectrofotómetro UV- Visible.
- Micropipetas de 5 a 25 µl, de 50 a 200 µl y de 200 a 1000 µl.
- Cubetas plásticas.
- Tubos de ensayo de 5 ml y gradillas.
- Puntas amarillas y azules.



VI. MUESTRA

- Control normal y/o patológico.

VII. PROCEDIMIENTO

- Realizar el montaje correspondiente, según el analito a procesar. **(Ver inserto)**
- Calcular la desviación estándar y media. **(Ver anexo 2)**
- Dibujar las gráficas de Levey-Jennings, sobre papel milimetrado.
- Aplicar las reglas de control a las gráficas de Levey-Jennings.
- Aceptar o rechazar la serie analítica según la regla de control violada.

VIII. TALLER DE PREGUNTAS

- Investigar todo lo relacionado con el control de calidad externo.
- Mediante un ejemplo hipotético, ilustre las consecuencias de no aplicar correctamente el control de calidad interno.
- Realice un cuadro comparativo entre el control de calidad interno y externo.



Anexo 2 CUADRO PARA EL CONTROL DE CALIDAD

ANALISTA: _____ ANALITO: _____ MES: _____
LOTE: _____

PASOS	DETERMINACION		d	d 2
	N	X	$(x - \bar{x})$	$(x - \bar{x})^2$
1. Anotar el resultado de cada determinación en la columna x.	1			
	2			
2. Sumar los valores de la columna x.	3			
	4			
3. Calcular el valor de la MEDIA : $\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n}$	5			
	6			
	7			
	8			
4. Anotar la diferencia entre cada determinación y la Media.	9			
	10			
	11			
5. Elevar al cuadrado cada una de las diferencias anotadas.	12			
	13			
6. Determinar la desviación estándar(DS): $s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (X_i - \bar{X})^2}{N - 1}}$	14			
	15			
	16			
	17			
El intervalo de confianza (límites) : Al valor de la media le sumamos dos desviaciones estándar, a la media le restamos dos desviaciones estándar. 95%	18			
	19			
	20			
	21			
	22			
Realizar la gráfica.	23			
	24			
	25			
	X=			
	DS=			
	Limites = +- 2DS.			



PRÁCTICA Nº 3: CUANTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

I. INTRODUCCIÓN

La **enzimología clínica** es uno de los campos más importantes de la bioquímica clínica que se han desarrollado recientemente, gracias a los aportes en el conocimiento teórico de las enzimas y a los progresos tecnológicos. La determinación de la actividad enzimática suministra al médico importante información diagnóstica y pronóstica de un paciente. En la actualidad, los análisis enzimáticos pueden representar hasta un 20% de la carga total de las pruebas bioquímicas en un laboratorio clínico.

Las enzimas son agentes químicos que ayudan a que los procesos bioquímicos del organismo se lleven a cabo a una velocidad compatible con la vida. Prácticamente todas las reacciones bioquímicas son catalizadas por las enzimas. En ausencia de éstas, dichas reacciones se efectuarían con tal lentitud que no podrían aportar la energía que se requiere para cubrir las necesidades metabólicas del cuerpo. Las enzimas tienen implicaciones importantes como determinantes de salud y la enfermedad, por ejemplo los errores congénitos del metabolismo se deben a anomalías en la síntesis de enzimas, debido a alteraciones a nivel genético.

Por otro lado, cuando se producen lesiones celulares, como las provocadas por afecciones del suministro sanguíneo, inflamación o necrosis de los tejidos, ciertas enzimas pasan al plasma y sus niveles en él aumentan. Estos niveles enzimáticos en plasma o suero se analizan para detectar la enfermedad y llegar al diagnóstico diferencial y pronóstico de la misma. Los niveles enzimáticos también son útiles para vigilar el curso del tratamiento una vez que se inicia, por tanto **la enzimología clínica** es un aspecto central de la ciencia del laboratorio clínico.

Como la velocidad de las reacciones enzimáticas es directamente proporcional a la concentración de enzima, la cual es baja en plasma, los ensayos enzimáticos consisten en la medida de actividades enzimáticas y no su concentración. **La unidad de actividad enzimática se expresa en Unidades Internacionales y se define como la cantidad de enzima que produce 1 mmol de producto por**



minuto en condiciones estándar. Dentro de los métodos utilizados para la cuantificación de la actividad enzimática se encuentra el cinético (de punto múltiples), donde se toman varias lecturas en el curso de reacción, lo que permita verificar si ésta es lineal; y el método de vigilancia continua, en donde se utiliza un espectrofotómetro con registrador para trazar el progreso de la reacción durante un periodo de varios minutos.

Los ensayos enzimáticos se basan en el análisis de alguna propiedad física que sea función de la cantidad de producto formado o de la cantidad de sustrato consumido. Con mucha frecuencia se emplea la espectrofotometría UV-Vis, mediante la cual se mide la absorbancia del medio de ensayo a una longitud de onda coincidente o cercana al máximo de absorción del sustrato o el producto de la reacción. En los casos en que dicho sustrato o producto no posean espectros de absorción UV-Vis característicos, se utilizan reacciones acopladas, de manera que la actividad enzimática de interés se determina a partir de la medida del producto de una segunda o tercera reacción acoplada con características espectroscópicas singulares.

De manera que de forma concreta se mide la cantidad de sustrato o producto formado en función del tiempo. Así, por lo general, se toman medidas de Absorbancia a tiempo 0min, 1min, 2min o 3 min, con cuyos datos se calcula la delta Abs (Diferencia entre dos valores de absorbancia consecutivos) que posteriormente se promedia y se multiplica por un factor previamente establecido por el Kit utilizado en función del **coeficiente de absortividad, el paso de luz y los volúmenes finales y de muestra empleados.**

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Comprender los fundamentos bioquímicos que permiten la determinación de la actividad enzimática en suero para aplicar los protocolos de laboratorio actuales de cuantificación que permitan el desarrollo de destrezas procedimentales para el óptimo desempeño profesional en el laboratorio clínico.



OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la Actividad enzimática de una enzima en suero humano utilizando un método espectrofotométrico ya sea en la región visible o en la región UV.
- Explicar los fundamentos químicos del método utilizado.
- Describir la utilidad clínica de la enzima cuantificada y su valor diagnóstico, relacionando alteraciones de los valores de referencia con procesos patológicos.

III. MÉTODO

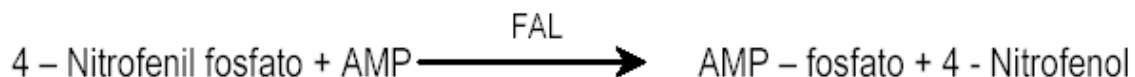
Cinético enzimático.

IV. FUNDAMENTO

Lactato deshidrogenasa (LD o LDH) cataliza la oxidación del piruvato por NADH⁺, obteniéndose lactato y NAD. La concentración catalítica se determina a partir de la velocidad de aparición del NADH, medido a 340 nm.



La fosfatasa alcalina (FAL) cataliza en medio alcalino la transferencia del grupo fosfato del 4-nitrofenilfosfato al 2-amino-2-metil-1-propanol (AMP), liberando 4-nitrofenol. La concentración catalítica se determina a partir de la velocidad de formación del 4-nitrofenol, medido a 405 nm.



V. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

- Reactivo de LDH. (Lactato deshidrogenasa).
- Reactivo de ALP. (Fosfatasa alcalina).



- Espectrofotómetro UV- Visible.
- Micropipetas de 5 a 25 μ l, de 50 a 200 μ l y de 200 a 1000 μ l.
- Cubetas plásticas.
- Tubos de ensayo de 5 ml y gradillas.
- Puntas amarillas y azules.

VI. MUESTRA

- Suero o plasma.

VII. PROCEDIMIENTO

El estudiante debe leer, comprender y analizar los fundamentos y aspectos prácticos durante el laboratorio (**ver insertos**).

VIII. TALLER

Se realizará el siguiente taller:

- Investigue la utilidad diagnóstica de la cuantificación de las enzimas anteriores y enuncie sus diferentes **Isoenzimas**.
- Mencione los órganos donde la enzima tiene mayor actividad.
- Explique si la elevación de la enzima en suero se considera **específica** o **inespecífica**, **sensible**, o **no sensible** para el diagnóstico de una patología en particular.
- ¿El método de cuantificación utilizado es de tipo **creciente** o **decreciente**? Argumente su respuesta.
- Mencione otras cinco enzimas, y su utilidad diagnóstica, y los órganos donde tienen mayor actividad.



PRÁCTICA Nº4: DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS TOTALES Y ALBÚMINA

I. INTRODUCCIÓN

Aproximadamente tres cuartas partes de los sólidos del organismo son proteínas. Estas comprenden las proteínas estructurales, las enzimas, las nucleoproteínas, las proteínas de transporte de oxígeno, las proteínas contráctiles del músculo, las proteínas plasmáticas y muchas otras que realizan el cuerpo funciones específicas, tanto extracelular como intracelularmente. Además de ser los constituyentes estructurales fundamentales de las células, las proteínas participan prácticamente en todos los procesos del ser vivo: Transporte, catálisis enzimática, control homeostático, regulación hormonal, coagulación de la sangre, inmunidad, crecimiento, cicatrización de heridas y herencia.

El grupo de proteínas plasmáticas mencionado antes está constituido por cerca de 100 proteínas cuya función se realiza en el plasma sanguíneo. Aunque todos los fluidos corporales contienen proteínas, son las proteínas plasmáticas las más frecuentemente utilizadas para establecer diagnósticos clínicos, ya que la concentración de muchas de ellas cambia de manera característica en determinadas condiciones fisiológicas. La proteína plasmática más abundante es la albúmina, y la mayor parte de las restantes se conocen colectivamente con el nombre de globulinas. Algunas proteínas plasmáticas son enzimas, como por ejemplo los factores de coagulación. Algunas proteínas plasmáticas y sus funciones se relación a continuación:

- **Transporte:** apolipoproteínas, albúmina, transferrina.
- **Inmunidad:** inmunoglobulinas.
- **Mantenimiento de presión osmótica:** todas, particularmente la albúmina.
- **Enzimas:** renina, factores de coagulación.
- **Inhibidores de proteasas:** antitripsina $\alpha 1$.
- **Regulación del pH (tampón):** todas.

Por lo general, la variación de la concentración de proteínas plasmáticas totales depende de:



- a) La variación de la velocidad de síntesis proteica.
- b) La variación de su velocidad de degradación.
- c) Cambios en el volumen de distribución.

En los dos primeros casos, los cambios ocurren en un periodo de tiempo largo, ya que están asociados a procesos altamente regulados. Sin embargo, la variación del volumen de distribución puede ocurrir de forma rápida y, por lo general, está asociada al estado de hidratación del paciente.

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Comprender los fundamentos químicos que permiten la cuantificación de proteínas totales, y albúmina en suero y aplicar las técnicas de laboratorio actuales para el desarrollo de destrezas procedimentales requeridas para el óptimo desempeño profesional en el laboratorio clínico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Al finalizar la práctica el estudiante estará en capacidad de:

- Cuantificar proteínas totales en suero humano.
- Cuantificar Albumina en suero humano.
- Aplicar la fórmula del proteinograma y su importancia clínica.
- Explicar los fundamentos químicos del método utilizado.
- Describir la utilidad clínica de la cuantificación de proteínas y albúmina en suero humano.

III. MÉTODO

Biuret- BCG.

IV. FUNDAMENTO

La cuantificación de proteínas totales se basa en el reconocimiento de proteínas con el reactivo de Biuret (método colorimétrico). Este método se basa en la formación de un complejo coloreado entre el ion Cu^{++} del reactivo y los nitrógenos



amídicos del enlace peptídico. Por lo tanto, este reactivo reconoce específicamente la presencia de enlaces peptídicos. Se utiliza como blanco el reactivo de Biuret y el color generado por la muestra se compara con un estándar.

MÉTODO: albumina - BCG.

FUNDAMENTO: la cuantificación de albúmina presente en la muestra reacciona con el verde de bromocresol en medio ácido, originando un complejo coloreado que se cuantifica por espectrofotometría.

V. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

- Reactivo de Biuret.
- Estándar de proteínas
- Reactivo de Albumina.
- Estándar de albumina
- Espectrofotómetro UV- Visible.
- Micro pipetas de 5 a 25 μ l, de 50 a 200 μ l y de 200 a 1000 μ l
- Cubetas plásticas
- Tubos de ensayo de 5 ml y gradillas
- Puntas amarillas y azules.

VI. MUESTRA

- Suero o plasma.

VII. PROCEDIMIENTO

El estudiante debe leer, comprender y analizar los fundamentos y aspectos prácticos durante el laboratorio (**ver insertos**).

FÓRMULA DE PROTEINOGRAMA:

PROTEÍNAS TOTALES (g/dl) = ALBÚMINA (g/dl) + GLOBULINAS(g/dl).



VIII. TALLER

- Exprese la concentración de Proteínas Totales y albumina obtenida en g/dL.
- Escriba con sus propias palabras lo que entiende por proteínas séricas, proteínas plasmáticas, las diferentes fracciones que las componen y dé ejemplos de proteínas incluidas en cada fracción junto con sus principales funciones.
- Investigue la utilidad diagnóstica de la cuantificación de proteínas totales y albumina.
- Describa otros métodos de utilidad para el análisis de proteínas.
- Explique el concepto de **electroforesis de proteínas** y diagrame un proteinograma característico de un paciente sano. Argumente qué tipo de características estructurales de las proteínas hacen posible la migración electroforética.

PRÁCTICA Nº 5: CUANTIFICACIÓN ÁCIDO ÚRICO.

I. INTRODUCCIÓN

El ácido úrico es el producto final del catabolismo de las purinas, deriva de la oxidación de las bases púricas. La mayor parte se forma en el hígado y en la mucosa intestinal y se excreta mayoritariamente por el riñón, que lo filtra por el glomérulo y lo reabsorbe en un 98% por el túbulo proximal. La cantidad eliminada diariamente por la orina, en circunstancias normales, es de 250 – 750 mg/dl. No obstante, varía mucho en función de la ingestión de purinas, el catabolismo endógeno, la insuficiencia renal, la acetoacidosis y el uso de diuréticos. Los niveles plasmáticos son considerablemente variables y son más elevados en los hombres que en las mujeres.



Su aumento en plasma, que fisiopatológicamente es más significativo que su disminución, es característico de algunos procesos, entre los que destacan el fracaso renal; los procesos hiperregenerativos con amplia destrucción celular, como las neoplasias y las leucemias; el uso de diuréticos, y, fundamentalmente, la gota. En los casos de insuficiencia renal crónica avanzada, existe un aumento progresivo del nivel plasmático de ácido úrico.

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Comprender el valor diagnóstico de la determinación de ácido úrico, esquematizar el fundamento e interpretar y aplicar el protocolo descrito para su determinación a fin de adquirir las destrezas requeridas para un excelente trabajo en el laboratorio clínico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la concentración de ácido úrico en la muestra de un paciente.
- Describir la utilidad clínica y los procesos patológicos y normales donde la cifra de ácido úrico se encuentre alterada.

III. MÉTODO

Análisis enzimático colorimétrico para ácido úrico.

IV. FUNDAMENTO

La uricasa se ha empleado ampliamente para aumentar la especificidad del ensayo de ácido úrico. Los métodos de uricasa se basan en la especificidad de la reacción del ácido úrico catalizada por la uricasa, a alantoína y peróxido de hidrógeno. Así, el peróxido de hidrógeno producido, oxida a un cromógeno del reactivo lo que genera la formación de un color cuya formación es directamente proporcional a la concentración de ácido úrico en el suero del paciente.

V. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

- Reactivo de ácido úrico.



- Estándar de ácido úrico.
- Espectrofotómetro UV- Visible.
- Micropipetas de 5 a 25 μ l, de 50 a 200 μ l y de 200 a 1000 μ l.
- Cubetas plásticas.
- Tubos de ensayo de 5 ml y gradillas.
- Puntas amarillas y azules.

VI. MUESTRA

- Suero o plasma.

VII. PROCEDIMIENTO

El estudiante debe leer, comprender y analizar los fundamentos y aspectos prácticos durante el laboratorio (**ver inserto**).

VIII. TALLER.

- Investigar sobre la gota. Una breve descripción sobre la patología que incluya el origen, la fisiopatología, los signos y síntomas del paciente, así como los niveles de ácido úrico que comúnmente alcanzan estos pacientes.

PRÁCTICA N°6: CUANTIFICACIÓN DE GLUCOSA Y HEMOGLOBINA GLICOSILADA.

I. INTRODUCCIÓN.

Los carbohidratos son considerados biomoléculas que cumplen diversas funciones en nuestro organismo, siendo la más importante su función energética, esto como consecuencia de la gran cantidad que en forma de ATP se origina de su catabolismo a nivel celular. La glucosa representa el principal carbohidrato que en nuestro organismo cumple con esta función, en presencia de oxígeno en las mitocondrias.



Es importante resaltar que el sistema nervioso central utiliza solo glucosa para este fin.

Las concentraciones normales de glucosa oscilan entre 70 y 105 mg/dl, esta concentración es producto de procesos como la gluconeogénesis, glucógenolisis y gluconeogénesis, los cuáles, bajo la regulación de hormonas como la insulina, el glucagón y glucocorticoides, aumentan o disminuyen las concentraciones según sus funciones o procesos que regulen.

Los trastornos metabólicos de la glucosa pueden generar un aumento en su concentración o hiperglicemia, como también una disminución o hipoglucemia. Ambas situaciones son desequilibrantes de la homeostasis de la misma y nocivas para la salud de las personas.

El laboratorio clínico juega un papel importante en la evaluación de la homeostasis de los carbohidratos, especialmente el de la glucosa mediante diversas pruebas diseñadas para detectar aumentos o disminuciones en su concentración basal.

La **glicemia en ayunas, glicemia post carga, glicemia post prandial, curva de tolerancia y el test de O Sullivan** son pruebas que tienen utilidad diagnóstica en patologías como la diabetes, la diabetes gestacional y la hipoglucemia; la **hemoglobina glicosilada** y la **fructosamina**, además de diagnósticas, también son utilizadas como pruebas de monitoreo o seguimiento al paciente.

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Comprender el valor diagnóstico de las diferentes pruebas que valoran el metabolismo de carbohidratos y los fundamentos bioquímicos que permiten su cuantificación para aplicar los protocolos de análisis de forma consciente, autorregulada y desarrollar las destrezas necesarias para el futuro desempeño profesional.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Cuantificar glucosa, hemoglobina glicosilada.
- Explicar los fundamentos analíticos que permiten su cuantificación.



- Comparar los resultados obtenidos con los valores de referencia de la población a fin de correlacionar clínicamente los datos del paciente.

III. MÉTODO

Prueba enzimática colorimétrica para glucosa.

IV. FUNDAMENTO

El método de la glucosa se basa en la oxidación de la misma, por la enzima glucosa oxidasa, reacción en la que se consume oxígeno (O₂) y se genera agua oxigenada (H₂ O₂), se genera un complejo coloreado que se cuantifica por espectrofotometría.

MÉTODO: fijación del antígeno y del anticuerpo para determinar directamente el HbA1c en sangre total.

FUNDAMENTO: la hemoglobina glicosilada, se trata de una porción de la hemoglobina que se encuentra unida de forma irreversible a la glucosa mediante enlaces covalentes. Se forma por mecanismos no enzimáticos dentro de los eritrocitos, siendo su cantidad proporcional a los niveles de glicemia, y permanece en ellos hasta que son destruidos.

V. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPO

- Reactivo de glucosa.
- Estándar de glucosa.
- Reactivo de hemoglobina glicosilada.
- Espectrofotómetro UV- Visible.
- Micropipetas de 5 a 25 µl, de 50 a 200 µl y de 200 a 1000 µl.
- Cubetas plásticas.
- Tubos de ensayo de 5 ml y gradillas.
- Puntas amarillas y azules.



VI. MUESTRA

- Suero o plasma.
- Sangre total con anticoagulante.

VII. PROCEDIMIENTO

El estudiante debe leer, comprender y analizar los fundamentos y aspectos prácticos durante el laboratorio (**ver insertos**).

VIII. TALLER

- ¿Qué otros métodos, además del desarrollado en este laboratorio, se pueden utilizar para la determinación de glucosa sanguínea?
- Consulte los valores de referencia actuales de glicemia.
- Con relación a procesos que cursan con hiperglicemia investigue la clasificación de la patología diabética (diabetes mellitus tipo 1, diabetes mellitus tipo 2), hipoglicemia, y una breve descripción fisiopatológica en cada caso.

PRÁCTICA Nº 7: PERFIL LIPÍDICO

I. INTRODUCCIÓN

Para que una sustancia sea considerada como un lípido, según la definición clásica, debe cumplir los siguientes requisitos:

- Ser insoluble en agua y soluble en solventes orgánicos.
- Ser actual o potencialmente un éster de ácido graso.
- Ser utilizada por los organismos vivientes.

Los lípidos séricos incluyen triglicéridos, colesterol, fosfolípidos, ésteres de colesterol, ácidos grasos no esterificados, alcoholes de elevado peso molecular, carotenoides, hormonas esteroideas y las vitaminas A, D, y E.

El colesterol, aunque en su molécula no contiene ácidos grasos, su núcleo esteroide



se sintetiza a partir de los productos de degradación de los ácidos grasos en nuestro organismo. El colesterol cumple importantes funciones, entre las cuales podemos señalar las siguientes:

- Hace parte integral de las membranas celulares
- Se conjuga con otras sustancias para formar sales biliares, lo que favorece la digestión y absorción de grasas.
- Es el precursor de las hormonas de naturaleza esteroideas.

Por otra parte, los triglicéridos son triacilgliceroles, es decir están formados por una molécula de glicerol esterificada con tres ácidos grasos. Los triglicéridos representan la reserva energética ubicada en el tejido adiposo, la cual en condiciones de ejercicio o ayuno prolongado es movilizada y metabolizada en el organismo para obtener energía para los procesos celulares endergónicos. El hecho de que los carbohidratos se pueden convertir en triglicéridos explica por qué ante un exceso de estos, existe aumento de tejido adiposo y por ende de peso corporal. Hoy en día la cuantificación de estos marcadores del metabolismo lipídico ha tomado gran interés debido a la alta frecuencia de pacientes con hiperlipidemias en el mundo, los cuales están expuestos al desarrollo de problemas cardiovasculares. Estas enfermedades, dentro del grupo de las enfermedades crónicas, muestran altos valores de mortalidad en diversos tipos de poblaciones, cuando ante un exceso de lípidos en la sangre se genera un proceso aterogénico e inflamatorio que ocasiona la obstrucción de la irrigación sanguínea en zonas específicas de diversos tejidos tan importantes como el coronario.

A partir de este preámbulo, el estudio de los lípidos y lipoproteínas séricas se constituye en una herramienta clínica importante para el diagnóstico, seguimiento y pronóstico del paciente. Los lípidos en el suero están asociados a proteínas (apoproteínas) formando las partículas lipoproteínas cuya función es el transporte de los lípidos a lo largo de todo el torrente sanguíneo. Existen diferentes tipos de partículas lipoproteínas de acuerdo con la naturaleza proteica y la composición lipídica, entre las cuales las LDL y las partículas remanentes del metabolismo de los



Quilomicrones y las VLDL juegan un papel crucial en el inicio del depósito que, en el endotelio vascular, origina la presencia de ateromas.

La concentración de colesterol **LDL (LDLc)** indica de forma más precisa (que la determinación de colesterol total) el riesgo aterogénico de un paciente. Y la de colesterol **HDL (HDLc)**, la inversa de dicho riesgo.

Valores por encima de 100 mg/dl de **(LDLc)**, o valores por debajo de 35 mg/dL de **(HDLc)**, se consideran de riesgo. Así, los aumentos de **(LDLc)**, se consideran como el principal factor de riesgo cardiovascular de tipo lipídico, mientras que el aumento de HDL-Colesterol es considerado como un factor protector de enfermedad cardiovascular debido a su función en el transporte inverso de colesterol, sus propiedades antioxidantes, antitrombóticas y su acción antiinflamatoria.

El cuantificar los lípidos séricos como los triglicéridos y colesterol contenido en las lipoproteínas ofrece un dato certero sobre la cantidad de partículas lipoproteínas en sangre, de forma que se convierten indiscutiblemente en marcadores del metabolismo lipoproteico y factores de riesgo cardiovascular en el paciente.

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Comprender el valor diagnóstico de las pruebas de triglicéridos, colesterol total, LDLc y HDLc, así como los fundamentos bioquímicos que permiten su cuantificación en suero, mediante el análisis y la aplicación de los protocolos de uso actual, para desarrollar así destrezas procedimentales que contribuyan a un óptimo desempeño profesional en el laboratorio clínico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Cuantificar los niveles de Triglicéridos y colesterol total en suero humano.
- Cuantificar los niveles de **HDLc** en el suero de un paciente.
- Calcular los niveles de **LDLc** mediante la aplicación de la fórmula de Friedewald.
- Calcular el valor de las **VLDLc**.



- Explicar los fundamentos químicos de los métodos utilizados.
- Describir la utilidad clínica del perfil lipídico, los valores normales y las patologías implicadas con el metabolismo de las lipoproteínas.

III. MÉTODO

Prueba enzimática colorimétrica para colesterol.

IV. FUNDAMENTO

El colesterol se determina después de la hidrólisis enzimática y la oxidación. El indicador es la quinoneimina formada por el peróxido de hidrógeno y 4-aminoantipirina en presencia de fenol y peroxidasa.

MÉTODO: prueba enzimática colorimétrica para triglicéridos.

FUNDAMENTO: la enzima lipoproteinlipasa hidroliza triglicéridos a glicerol y ácidos grasos, este glicerol tras la acción de glicerol quinasa se convierte en glicerol-3-fosfato que se oxida a dihidroxiacetona y peróxido de hidrógeno oxida al cromógeno a un compuesto de color que es leído espectrofotométricamente.

MÉTODO: método colorimétrico enzimático para HDL colesterol.

FUNDAMENTO: las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y de baja densidad (LDL) presentes en la muestra, precipitan en presencia de fosfotungstato y iones magnesio. El sobrenadante contiene las lipoproteínas de elevada densidad (HDL), cuyo colesterol se cuantifica espectrofotométricamente.

V. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS:

- Reactivo de Colesterol.
- Estándar de Colesterol.
- Reactivo de Triglicéridos.
- Estándar de Triglicéridos.



- Reactivo de HDLc.
- Estándar de HDLc.
- Espectrofotómetro UV-Visible.
- Micropipetas de 5 a 25 µl, de 50 a 200 µl y de 200 a 1000 µl.
- Cubetas plásticas.
- Tubos de ensayo de 5 ml y gradillas.
- Puntas amarillas y azules.

VI. MUESTRA

- Suero o plasma.

VII. PROCEDIMIENTO

El estudiante debe leer, comprender y analizar los fundamentos y aspectos prácticos durante el laboratorio (**ver insertos**).

Determinación de la concentración de LDLc:

La fórmula de Friedewald nos permite averiguar la fracción LDL colesterol (LDLc) si conocemos el colesterol total (CT), la fracción HDL colesterol (HDLc) y los triglicéridos (TG), usando la siguiente expresión matemática:

$$\text{LDL-Colesterol} = \text{Colesterol Total} - [\text{HDL Colesterol} + (\text{Triglicéridos}/5)]$$

En la fórmula de Friedewald, el cociente TG/5 indica el contenido de colesterol en las **VLDL**, siempre que éstas sean normales.

VIII. TALLER.

- Describa las funciones biológicas del colesterol y triglicéridos en el organismo humano.
- Investigue las condiciones que debe cumplir el paciente antes de la toma de la muestra para la cuantificación de lípidos.
- Realice una revisión bibliográfica para plantear un mapa conceptual de las dislipidemias y su clasificación.



- Investigue los valores de referencia para estas biomoléculas.
- Investigue sobre los procesos patológicos de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia.
- Investiga el mecanismo mediante el cual se produce la aterogénesis.

PRÁCTICA Nº 8: PRUEBAS QUE EVALÚAN EL METABOLISMO DEL HIERRO

I. INTRODUCCIÓN.

El hierro en el organismo está estrechamente asociado con la función de la hemoglobina y la mioglobina, también participa en el metabolismo aerobio como componente de los citocromos. Así mismo, es componente de algunas enzimas mitocondriales y de la xantina oxidasa implicada en la producción de ácido úrico.

El hierro ha sido denominado “sustancia de dirección única” ya que puede ser absorbido en pequeñas cantidades, pero una vez que se absorbe es poco lo que se excreta. Cualquier exceso por encima y por debajo de la cantidad absorbida es eliminado en las heces.

El metabolismo del hierro comprende los procesos de absorción, transporte, almacenamiento y excreción, donde moléculas como la transferrina (transportadora de hierro), ferritina y hemosiderina están involucradas.

Así los estudios de hierro en el laboratorio se enfocan en la determinación de hierro sérico, capacidad total de fijación de hierro (CTFH) y concentración de ferritina en suero.

Así, el hierro sérico es hierro en tránsito ligado a la transferrina presente en el plasma que deriva principalmente del catabolismo de la hemoglobina, su disminución se correlaciona entre otras patologías con anemias en trastornos crónicos y en procesos infecciosos.

Por otro lado, la capacidad de la transferrina para combinarse con el hierro se mide como capacidad de fijación de hierro y su concentración tiene una notable



consistencia. Por lo general, los padecimientos que disminuyen las concentraciones de hierro en el suero aumentan su fijación total, es decir, mientras menos hierro haya disponible para fijarse, mayor es el número de sitios de fijación vacíos. La capacidad de la transferrina para fijar hierro es alrededor de tres veces mayor que la concentración sérica normal de hierro.

Finalmente, la ferritina es la principal almacenadora de hierro del organismo, su medición refleja de modo preciso las reservas intracelulares de hierro. Cuando se realiza junto con las mediciones de hierro sérico y CTFH, se dispone de un diagnóstico más complejo, el cual puede eliminar la necesidad de examen de médula ósea para el diagnóstico de la deficiencia de hierro.

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Comprender el valor diagnóstico de la determinación de hierro sérico, CTFH y ferritina y realizar la cuantificación de los mismos aplicando el control de calidad y la programación acertada del equipo a fin de generar datos diagnósticos precisos y exactos que conlleven a una correcta correlación clínica y diagnóstico del paciente.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Cuantificar hierro sérico, CTFH en el suero de un paciente, utilizando equipos semiautomatizados.
- Describir los fundamentos analíticos que permiten las cuantificaciones realizadas.
- Determinar el porcentaje de saturación del hierro, a través de la concentración del hierro y el CTFH.
- Comparar los resultados obtenidos con los valores de referencia de la población a fin de correlacionar clínicamente los datos del paciente.

III. MÉTODO

Prueba fotométrica colorimétrica para el hierro.

IV. FUNDAMENTO



El ion férrico presente en la muestra y unido a la transferrina es liberado por acción del guanidinio y reducido a ferroso por el ácido ascórbico. El ion ferroso forma un complejo coloreado con la ferrozina que se cuantifica por espectrofotometría.

MÉTODO: prueba fotométrica colorimétrica

FUNDAMENTO: la proteína ligante de hierro transferrina en suero se satura con la adición de una sobrecarga de iones hierro (III). El exceso de hierro no unido es adsorbido con óxido de aluminio y precipitado. Se determina luego la transferrina unida al hierro en el sobrenadante.

V. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

- Reactivo de Hierro sérico.
- Reactivo de CTFH.
- Espectrofotómetro UV- Visible.
- Micropipetas de 5 a 25 µl, de 50 a 200 µl y de 200 a 1000 µl.
- Cubetas plásticas.
- Tubos de ensayo de 5 ml y gradillas.
- Puntas amarillas y azules.

VI. MUESTRA

- Suero o plasma

VII. PROCEDIMIENTO

El estudiante debe leer, comprender y analizar los fundamentos y aspectos prácticos durante el laboratorio (**ver insertos**).

Porcentaje de la saturación del hierro por la siguiente fórmula:

% SATURACION DE HIERRO: concentración de hierro en suero/CTFH X 100%



VIII. TALLER

- ¿Por qué la utilidad de la determinación del hierro sérico se ve limitada y/o disminuida para establecer un diagnóstico de un paciente?
- Describa qué procesos patológicos se acompañan con niveles de hierro sérico aumentados.

PRÁCTICA Nº 9: PERFIL CARDIACO

I. INTRODUCCIÓN.

Las pruebas bioquímicas del perfil cardiaco se introdujeron como un apoyo diagnóstico clínico del IAM, el primer marcador de daño cardiaco fue la SGOT (Transaminasa glutámico oxalacética) y luego la deshidrogenasa Láctica (LDH) cuya negatividad descartaba IAM. Sin embargo, ambas pruebas eran poco específicas, ya que se elevaban en enfermedades hepáticas y en otras patologías. De esta manera, los constantes avances científicos y tecnológicos hacen que hoy en día se utilicen marcadores cardiacos mucho más específicos, tales como la creatina kinasa (CPK), creatina kinasa MB (isoformas de CKMB), mioglobina, Troponina I y T.

Principalmente, la utilidad de estas pruebas séricas bioquímicas se enfoca al diagnóstico de Infarto Agudo de Miocardio (IAM), cuyo diagnóstico se basa históricamente en la existencia de al menos dos de los tres criterios definidos por la Organización Mundial de la Salud, que son: Dolor precordial anginoso de al menos 30 minutos de duración, cambios electrocardiográficos y aumento de la actividad de enzimas plasmáticas principalmente creatinkinasa (CK) total o su isoenzima MB.

A continuación, se presenta un breve comentario relacionado con algunos de los marcadores séricos mencionados:

CK o CPK (Creatina quinasa): La CK se encuentra predominantemente en el músculo cardíaco, esquelético y el cerebro. Los niveles séricos de CK están elevados siempre que se produce una lesión de esas células musculares. Los



niveles de CK pueden aumentar dentro de las 6 horas siguientes al daño celular. Si el daño no es persistente, los niveles alcanzan su máximo 18 horas después de la lesión y se normalizan a los 2 o 3 días.

Para evaluar de forma específica la lesión del músculo miocárdico, se realiza electroforesis de la CK total con el fin detectar las tres isoenzimas: CK-BB (CK1), **CK-MB (CK2)** y la CK-MM (CK3).

La isoenzima **CK-MB** es específica de las células cardíacas. En la actualidad, la CK-MB se cuantifica por inmunoensayos, utilizando anticuerpos monoclonales para inhibir la subunidad M; en las primeras 4 horas de dolor precordial, la cuantificación de CK-MB, es la prueba de elección y se deben tomar muestras cada 2 o 4 horas.

MIOGLOBINA: Las concentraciones de mioglobina en sangre se elevan cuando hay destrucción de la fibra muscular; sin embargo, su distribución generalizada en todos los músculos limita su especificidad como marcador de daño del miocárdico. La mioglobina es un indicador rápido de daño en el músculo cardíaco, ya que se libera en la circulación sanguínea en las primeras 2 horas después del dolor precordial, mostrando un pico máximo entre las 6 y las 9 horas; regresando a los valores normales entre las 24 y 36 horas. Además del diagnóstico, la mioglobina también puede ser útil para la valoración del tamaño del infarto que llevaría a establecer un pronóstico de exactitud.

TROPONINA Por otro lado, la troponina I y T sólo se presentan en suero cuando existe necrosis cardíaca. Sin embargo, la concentración de éstas permanece elevada de 3 a 14 días. Así, debido a su liberación relativamente rápida se le ha dado un papel de **marcador precoz de IAM**, y además, como es prolongada, también se utiliza para suministrar un diagnóstico tardío de IAM.

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Comprender el valor diagnóstico de la determinación de **CPK, CK - MB,**



TROPONINA en suero y realizar la cuantificación de los mismos aplicando el control de calidad y la programación acertada del equipo a fin de generar datos diagnósticos precisos y exactos que conlleven a una correcta correlación clínica y diagnóstico del paciente.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Cuantificar CK–Total, CK-MB, Troponina en el suero de un paciente, utilizando equipos semiautomatizados que requieren programación.
- Describir los fundamentos analíticos de las cuantificaciones realizadas.
- Comparar los resultados obtenidos con los valores de referencia de la población a fin de correlacionar clínicamente los datos del paciente.

III. MÉTODO

Cinético enzimático.

IV. FUNDAMENTO

La creatina quinasa (CK) cataliza la fosforilación del ADP por el fosfato de creatina, obteniéndose creatina y ATP. La concentración catalítica se determina, empleando las reacciones acopladas de la hexoquinasa y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, a partir de la velocidad de formación del NADPH, medido a 340 nm.

MÉTODO: cinético enzimático.

FUNDAMENTO: la creatina quinasa fracción (MB): Un anticuerpo específico inhibe las dos subunidades M de la CK-MM (CK-3) y la única subunidad M de la CK-MB (CK-2), lo que permite la medición de la subunidad B de la de la CKMB (asumiendo la ausencia de CK-BB o CK-1). La concentración catalítica de CK-B, que corresponde a la mitad de la actividad CK-MB, se determina empleando las reacciones acopladas de la hexoquinasa (HK) y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6P-DH), a partir de la velocidad de formación del NADPH, medido a 340 nm.

MÉTODO: inmunoensayo cualitativo de membrana (troponina).

FUNDAMENTO: la membrana está pre-cubierta con reactivo de captura en la región de la línea de examen de la prueba. Durante el examen los especímenes reaccionan



con la partícula cubierta de anticuerpos de anti-cTnI. La mezcla migra hacia arriba de la membrana cromatográficamente por acción capilar para reaccionar con el reactivo de captura en la membrana y generar una línea coloreada. La presencia de esta línea de color en la región de la banda del examen indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. Como un procedimiento de control, una línea de color siempre aparecerá en la región de la banda de control indicando que un volumen adecuado del espécimen ha sido añadido y que la reacción de la membrana ha ocurrido.

V. REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS

- Reactivo de CK TOTAL.
- Reactivo de CK – MB.
- TROPONINA.
- Espectrofotómetro UV- Visible.
- Micropipetas de 5 a 25 µl, de 50 a 200 µl y de 200 a 1000 µl.
- Cubetas plásticas.
- Tubos de ensayo de 5 ml y gradillas.
- Puntas amarillas y azules.

VI. MUESTRA

- Suero o plasma.

VII. PROCEDIMIENTO.

El estudiante debe leer, comprender y analizar los fundamentos y aspectos prácticos durante el laboratorio (**ver insertos**).

VIII. TALLER

- Grafique la cinética (comportamiento en el tiempo) de los diferentes marcadores cardiacos cuantificados en la práctica en el caso de ocurrir un



infarto agudo de miocardio a un individuo. Añada aquellos marcadores enzimáticos o no enzimáticos que también pertenezcan al perfil cardíaco.

- Describa la diferencia entre las isoformas de la CK-MB y explique con sus palabras cuál es la utilidad y/o ventaja de la cuantificación de este marcador.
- Investigue otras pruebas usadas en la actualidad para el diagnóstico del IAM.



BIBLIOGRAFÍA

- Harper. Bioquímica Ilustrada. Mc Graw Hill. 30^{ava} edición. 2013.
- Laguna, José; Piña Garza, Enrique; Martínez Montes, Federico. Bioquímica de Laguna. Manual moderno, 7^{ma} edición, 2013.
- Charlotte W, Pratt; Kathleen, Cornely. Bioquímica. Manual moderno 2^{da} edición. 2012.
- Ciro, Alvear Sedan. Bioquímica Humana: De las bases a la clínica. Universidad de Cartagena. 1^{ra} edición, 2007.
- Lehninger. Principios de bioquímica. Editorial omega 6^a ed. 2014.
- Vv.aa. Principios de Bioquímica. Editorial Prentice hall México. 2007.
- Donald voet. Fundamentos de Bioquímica. Editorial medica panamericana. 4^o edición. 2016.
- Gaw, Murphy, Srivastava & Cowan . Bioquímica clínica. 5^{ta}. ELSEIVER 2014
- Michael Lieberman, Allan Marks md, Alisa Peet. Bioquímica médica básica. Editorial wolters kluwer. 3^{ra} edición. 2013.
- Guillermo Ruiz Reyes , Alejandro Ruiz Argüelles. Fundamentos de Interpretación Clínica de los Exámenes de Laboratorio. 3^{era} edición. PANAMERICANA.2017.
- Margaret Ordóñez Smith de Danies. Guías prácticas para los Laboratorios de Bacteriología clínica. 4^{ta}. Editorial medica Panamericana. 2014.
- Moran Villatoro Luis. Obtención de muestras sanguíneas de calidad analítica. Editorial Médica Panamericana. Tercera edición.2005.
- C, Fernández. d. Mazziotta. Gestión de la calidad en el Laboratorio Clínico. Editorial Médica Panamericana. 2005
- Sistema de gestión de la calidad en el laboratorio. OMS . 2016.
<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/252631/1/9789243548272-spa.pdf?ua=1>
- Alberto Gómez Gutiérrez, María Consuelo Casas Gómez. Interpretación Clínica del Laboratorio. Editorial medica Panamericana. Edición: 8^a. 2014.
- Kathleen Morrison Treseler laboratorio clínico y pruebas de diagnóstico. Manual moderno. 8^a ed. 2008.
- Mérida de la Torre F J, Elvira Eva Moreno Campoy E. Organización sanitaria, calidad y gestión de muestras biológicas. 1^{ra} edición. Panamericana.2015
- Koolman Jan, Rohm Klaus-Heinrich. Bioquímica humana. Panamericana. 4^{ta} edición.2012.
- BASES DE DATOS: EBSCOHost , OVID
- William Marshall. Clinical chemistry. Editorial MOSBY. 7^{ma} edition. 2012.
- Robert H. Glew, Yoshifumi Ninomiya. CLINICAL STUDIES IN MEDICAL BIOCHEMISTRY. Oxford University Press. Segunda edición. Año 2008.



CORPORACIÓN UNIVERSITARIA
RAFAEL NÚÑEZ
PARA QUE TU DESARROLLO CONTINÚE SU MARCHA

Campus Cartagena
Centro Comercial Pasaje de la Moneda
Cra. 8B #8-56
Tel. 6517088 Ext 1202

Campus Barranquilla
Cra 54 #66-54
Tel. (5) 3602197 Ext 1319



www.curn.edu.co