MINISTERIO DE SALUD
VICEMINISTERIO DE PRESTACIONES
Y ASEGURAMIENTO EN SALUD
HOSPITAL DE EMERGENCIAS
JOSE CASIMIRO ULLOA

Nº 306 -2020-DG-HEJCU

Resolución Directoral

Miraflores, 22 de Diciembre de 2020

VISTO:

El Expediente Nº 20-000475-001 que contiene el Memorando Nº 012-2020-DPC-HEJCU elaborado por la Jefa del Departamento de Patología Clínica y el Informe Nº 127-2020-OEPP-HEJCU emitido por el Jefe de la Oficina Ejecutiva de Planeamiento y Presupuesto quien, a su vez, remite el Informe Nº 051-2020-EOM-OEPP-HEJCU elaborado por la Coordinadora del Equipo de Organización y Modernización de la citada oficina del Hospital de Emergencias José Casimiro Ulloa; y,

CONSIDERANDO:

Que, mediante Ley Nº 26842 - Ley General de la Salud, se estableció que la protección de la salud es de interés público y por tanto, es responsabilidad del Estado, regularla, vigilarla y promoverla. Del mismo modo se estableció que el Ministerio de Salud diseña y organiza procesos organizacionales de dirección, operación y apoyo, las mismas que deben implementar las estrategias de mediano plazo, así como que los subprocesos y actividades componentes se modifican en función de las innovaciones tecnológicas y la reformulación de los objetivos estratégicos.

Que, mediante Resolución Ministerial Nº 850-2016/MINSA, de fecha 28 de octubre de 2016, se aprobó la norma para la elaboración de Documentos Normativos del Ministerio de Salud, aplicable al presente caso, la cual tiene como objetivo establecer disposiciones relacionadas con los procesos de planificación, formulación o actualización, aprobación, difusión, implementación y evaluación de los documentos normativos, así como estandarizar los elementos conceptuales, estructurales y metodológicos más relevantes de los documentos normativos.

Que, mediante Resolución Ministerial Nº 767-2006/MINSA, se aprobó el Reglamento de Organización y Funciones del HEJCU, cuyo artículo 40º establece que el Departamento de Patología Clínica es la unidad orgánica encargada de proporcionar ayuda técnica especializada mediante la ejecución de procedimientos y pruebas analíticas en líquidos y secreciones corporales para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades; teniendo como funciones, entre otros, realizar exámenes de bioquímica, hematología, inmunología, microbiología y otros exámenes necesarios.

Que, el Segundo Párrafo del Artículo 5 del Decreto Supremo 013-2006-SA, Reglamento de Establecimiento de Salud y Servicios Médicos de Apoyo, establece que los establecimientos de salud y servicios médicos de apoyo deben de contar, en cada área, unidad o servicio, con **manuales de procedimientos**, guías de práctica clínica referidos a la atención de los pacientes, personal, suministros, mantenimiento, seguridad y otros que sean necesarios, según sea el caso; de acuerdo a las normas vigentes.

Que, de la revisión del portal *web* del hospital, se verificó que mediante Resolución Directoral N° 268-2017-DG-HEJCU, de fecha 27 de octubre de 2017, se aprobó el Manual de Normas y Procedimientos de Bioquímica Clínica de este nosocomio; siendo que por el tiempo transcurrido, esta se encontraría desfasada.

Que, en virtud de lo señalado en los párrafos precedentes, la Jefa del Departamento de Patología Clínica remitió, mediante Memorando N° 012-2020-DPC-HEJCU, de fecha 08 de enero de 2020, un nuevo Manual de Normas y Procedimientos de Bioquímica Clínica, debidamente visado, para la aprobación mediante acto resolutivo.

Que, el citado Manual de Normas y Procedimientos de Bioquímica Clínica del Departamento de Patología Clínica tiene como objetivo normar y estandarizar el desarrollo de los procedimientos técnicos del servicio de Bioquímica Clínica, conforme a las normas técnicas del servicio de apoyo al diagnóstico y la política de gestión del citado departamento.

Que, mediante Informe N° 127-2020-OEPP-HEJCU, de fecha 27 de noviembre de 2020, el Director Ejecutivo de la Oficina Ejecutiva de Planeamiento y Presupuesto remite el Informe N° 051-2020-EOM-OEPP-HEJCU elaborado por la Coordinadora del Equipo de Organización y Modernización de la citada oficina, quien, a su vez, emite opinión técnica favorable respecto a la estructura de la Guía Técnica: Manual de Normas y Procedimientos de Bioquímica Clínica del Departamento de Patología Clínica.

Que, estando a lo propuesto por el Departamento de Patología Clínica (área usuaria) y a la opinión de la Oficina Ejecutiva de Planeamiento y Presupuesto resulta pertinente aprobar el Manual de Normas y Procedimientos de Microbiología Clínica del Hospital de Emergencias José Casimiro Ulloa.

Contando con el visado del Departamento de Patología Clínica, de la Oficina Ejecutiva de Planeamiento y Presupuesto y de la Oficina de Asesoría Jurídica del Hospital de Emergencias José Casimiro Ulloa; y,

De conformidad con lo dispuesto en el literal d) del artículo 11 del Reglamento de Organización y Funciones del Hospital de Emergencias José Casimiro Ulloa, aprobado por Resolución Ministerial N° 767-2006/MINSA, y de la Resolución Ministerial N° 1364-2018-MINSA;

SE RESUELVE:

ARTÍCULO 1.- APROBAR la **Guía Técnica: Manual de Normas y Procedimientos de Bioquímica Clínica del Departamento de Patología Clínica del Hospital de Emergencias José Casimiro Ulloa**, el mismo que, como anexo, forma parte integrante de la presente resolución.

ARTÍCULO 2.- ENCARGAR al Departamento de Patología Clínica la ejecución de las acciones correspondientes para la difusión, cumplimiento, implementación y aplicación del manual aprobado en el artículo 1 de la presente resolución.

ARTÍCULO 3.- DEJAR SIN EFECTO la Resolución Directoral N° 268-2017-DG-HEJCU y todas aquellas que se opongan a la presente resolución.

ARTICULO 4.- ENCARGAR a la Oficina de Comunicaciones la publicación de la presente resolución en el portal *web* institucional de la entidad (www.hejcu.gob.pe).

Regístrese, comuníquese y cúmplase.

LJPE/IVDE/JCCF/LCD/jp
Distribución:
- Dirección General
- Dirección Médica
- Dpto. de Patología Clínica
- Of. de Planeamiento y Presupuesto
- Of. Asesoría Jurídica
- Of. Comunicaciones
- Archivo

MINISTERIO DE SALUD
Hospital de Emergencias José Casimiro Ulloa

Dr. LUIS JULIO PANCORVO ESCALA
Director General (e)
CMP 8833 RNE 2547

Uso interno obligatorio

Documento elaborado por:	Revisado por:	Aprobado por:
Lic. TM Isaías Vilcachagua V.	Lic. TM Bruno Valera Hurtado	Dr. Jimmy Gallegos Catachura
Fecha de elaboración:	**Fecha de revisión:**	**Fecha de aprobación:**
Marzo 2016	Abril 2019	
Modificaciones: Aplicado al ejercicio profesional en el Departamento de Patología Clínica, remodelado, cambio a Vitros 350, Gasómetro Gem Premier 5000. **Actualización de manual:** Marzo 2017, Enero 2018, Abril 2019 en revisión y 2019 modificación		
Distribución: Uso interno del laboratorio		

Director General

Dr. Enrique Gutiérrez Yoza

Jefe del Departamento de Patología Clínica

Dra. Violeta Dávila Ildefonso

Responsable del Servicio de Bioquímica Clínica

Dr. Jimmy Gallegos Catachura

Manual de Normas y Procedimientos de Bioquímica Clínica

LIMA – PERU

2019

ÍNDICE

	Página
Introducción	05
1. Finalidad	06
2. Objetivos	06
3. Base legal	06
4. Ámbito de aplicación	07
5. Contenido	07
5.1 Disposiciones generales	07
5.2 Normas del Servicio	07
5.3 Procedimientos Administrativos y Técnicos del Servicio	10
5.3.1 Bioseguridad del Servicio de Bioquímica	10
5.3.2 Uso de refrigeradoras y congeladoras	12
5.3.3 Identificación del paciente y de los análisis solicitados	12
5.3.4 Obtención de muestras	13
5.3.5 Equipos del Servicio de Bioquímica Clínica	14
5.3.5.1 Microlab 3000	15
5.3.5.2 VITROS® 350 – Ortho Clinical Diagnostics	17
5.3.5.3 Inmunoanalizador compacto PATHFAST	21
5.3.5.4 Gem Premier 5000 para Gasometría y medio interno	24
5.3.5.5 Edan i15 para Gasometría y medio interno	26
5.4 Determinación de Gasometría – Electrolitos – Lactato – Ca^{2+} (Calcio iónico)	27
5.4.1 Gases arteriales	29
5.4.2 Electrolitos	33
5.4.3 Anión Gap	33
5.4.4 Lactato	35
5.5 Determinación de Marcadores Biológicos por Quimioluminiscencia –CLIA–	36
5.5.1 Troponina I	39
5.5.2 NT-proBNP (Péptido Natriurético)	40
5.5.3 Dímero D	41
5.5.4 βHCG Cuantitativa	42
5.6 Determinación de Analitos Bioquímicos por Química Seca	44
5.6.1 Método de Química Seca	44
5.6.2 Glucosa	50
5.6.3 Urea y Nitrógeno Ureico	53
5.6.4 Creatinina	54

5.6.5 Amilasa 57
5.6.6 Lipasa pancreática 59
5.6.7 Creatin kinasa Fracción MB (CK-MB) 61
5.6.8 Creatin kinasa (CK) Total 63
5.6.9 Gamma-Glutamil Transferasa (GGTP) 65
5.6.10 Transaminasa Glutámico Pirúvica (TGP) / Alanina aminotransferasa (ALT) 67
5.6.11 Transaminasa Glutámico Oxalacética (TGO) / Aspartato aminotransferasa (AST) 68
5.6.12 Fosfatasa alcalina (ALP) 70
5.6.13 Colesterol total 72
5.6.14 Triglicéridos 74
5.6.15 Colesterol HDL 76
5.6.16 Colesterol LDL 78
5.6.17 Calcio sérico 79
5.6.18 Deshidrogenasa Lactica (LDH) 81
5.6.19 Proteínas Totales (TP) 82
5.6.20 Albúmina Sérica (ALB) 84
5.6.21 Bilirrubina Total (TBIL) 85
5.6.22 Bilirrubina Indirecta (Bu – Bc) 87
5.6.23 Ácido Úrico 89
5.6.24 Fósforo 91
5.6.25 Magnesio 92
5.6.26 PCR Cuantitativo 94
5.6.27 Proteínas en Orina 96
5.6.28 Proteínas En Liquido Cefalorraquideo 97
5.7 Determinación de Analitos Bioquímicos por Química Liquida 99
5.7.1 Test de ADA o Adenosina Deaminasa 99
5.8 Determinación de Analitos por Point of care testing 101
5.8.1 Hemoglucotest 101
5.8.2 Prueba de Embarazo Cualitativa 102
6. Responsabilidades 104
7. Anexos 105
8. Bibliografía 109

INTRODUCCION

Brindar una atención con eficiencia, calidad y equidad, es objetivo de todo servicio hospitalario. Como tal, siendo el Hospital de Emergencias José Casimiro Ulloa, referente, a nivel nacional, para la atención de pacientes en estado crítico y cuadros de emergencia, de acuerdo a los lineamientos de la política institucional, se procedió a encomendar la elaboración de los Manuales de Normas y Procedimientos a los diversos Departamentos que forman parte de nuestra Institución.

El Departamento de Patología Clínica constituye un órgano de línea del Hospital de Emergencias José Casimiro Ulloa, que encuentra en sus funciones, numerosas acciones a realizar, esto como consecuencia de ser un establecimiento de alta categoría (III-E), aunado a lo anterior se halla el estar dedicado a la atención de pacientes en condición de emergencia (lo cual determina una alta responsabilidad intrínseca a todo el sector salud); que como es de entender, tal condición amerita decisiones no sólo certeras sino rápidas y oportunas; es así, que, el Departamento de Patología Clínica lleva un papel importantísimo en este actuar al permitir corroborar, aclarar o diagnosticar patologías que pudieran estar tentándose como diagnóstico o que simplemente pasaron por alto debido al momento propio de la emergencia.

El presente Manual de Normas y Procedimientos Técnicos, del Servicio de Bioquímica Clínica, tiene por finalidad hacer de conocimiento, al personal del Departamento de Patología Clínica los procedimientos técnicos y administrativos que rigen el funcionamiento del servicio, así como su cumplimiento respectivo.

1. FINALIDAD

Regular los procedimientos técnicos y administrativos que se desarrollan en el servicio de Bioquímica Clínica del Departamento de Patología Clínica, a fin de obtener resultados de las pruebas realizadas con la mayor exactitud posible y les permita a los médicos tratantes, llegar a un diagnóstico clínico preciso y un manejo terapéutico apropiado.

2. OBJETIVOS

Objetivo General

- Normar y estandarizar el desarrollo de los procedimientos técnicos del servicio de Bioquímica Clínica, conforme a las Normas técnicas de Servicios Médicos de Apoyo al diagnóstico y la política de gestión del departamento de Patología Clínica

Objetivos Específicos

- Obtener resultados de las pruebas bioquímicas con el mayor grado de precisión y exactitud, según lo requieran.
- Lograr una correlación óptima entre los resultados de las pruebas obtenidas con el cuadro clínico del paciente.
- Brindar confiabilidad y seguridad al personal médico que evalúa los resultados de las pruebas solicitadas a fin de que esto permita un manejo terapéutico apropiado de los pacientes.

3. BASE LEGAL

- Ley Nº 26842: Ley General de Salud
- Ley N° 27658, Ley Marco de Modernización de la Gestión Pública.
- R. M. Nº 767 – 2006 – MINSA: Aprueba el Reglamento de Organización y Funciones del Hospital de Emergencias "José Casimiro Ulloa".
- R. D. Nº 272 – OPE – HEJCU – 2004: Aprueba el Manual de Organización y Funciones del Departamento de Patología Clínica.
- Norma para la Elaboración de Documentos Normativos del Ministerio de Salud, aprobada con R.M. Nº 826-2005/MINSA. Derogada 526-2011/850/2016
- NTS Nº 050-MINSA/DGSP-V.02 "Norma Técnica de Salud para la Acreditación de Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo", aprobada con R.M. N° 456-2007/MINSA y modificada con R.M. Nº 777-2007/MINSA.
- Resolución Ministerial N° 850-2016/MINSA, aprobar "Normas para la elaboración de Documentos Normativos del Ministerio de Salud".
- Decreto Supremo N° 123-2018-PCM: Decreto Supremo que aprueba el sistema de modernización de la Gestión pública.

4. ÁMBITO DE APLICACIÓN

El presente Manual es de observancia obligatoria por todo el personal que desarrolla funciones en el servicio de Bioquímica Clínica del Departamento de Patología Clínica del Hospital de Emergencias José Casimiro Ulloa.

5. CONTENIDO

5.1. DISPOSICIONES GENERALES

El personal que labora en el equipo del servicio de Bioquímica Clínica, está integrado por:

- **Médico Patólogo Clínico: Responsable del Equipo:** Médico Especialista en Patología Clínica, quien da las pautas para un adecuado funcionamiento del servicio de Bioquímica. Asimismo, se encargará de vigilar y hacer cumplir el presente Manual de Normas y Procedimientos.
- **Licenciado Tecnólogo Médico:** Profesional que se encarga de ejecutar las pautas establecidas para el cumplimiento de las Normas y Procedimientos del presente Manual. Asimismo, efectúa los procedimientos tecnológicos y técnicos propios del servicio.
- **Técnico en Laboratorio:** Efectúa los procedimientos técnicos propios del servicio. Además, deberá cumplir con lo indicado en el presente Manual.
- **Personal de Laboratorio:** Compuesto por el Personal Rotativo de Guardia, quien se encarga de atender y resolver las solicitudes de análisis de pruebas bioquímicas que se pidan al Departamento de Patología Clínica, en los horarios en que el personal fijo, no se encuentre programado en el área.

5.2. NORMAS DEL SERVICIO

5.2.1. Horario de atención:

El servicio de Bioquímica Clínica atenderá las 24 horas del día, de lunes a domingo, bajo el sistema de Guardias Hospitalarias Diurnas y Nocturnas (12 horas) de la siguiente forma:

a) Regular (Personal profesional propio del servicio): Guardias diurnas, en forma interdiaria (de lunes a sábado, incluyendo feriados).

b) De guardia (personal profesional asignado para el servicio): Guardias diurnas (domingos) y nocturnas (todos los días) de 12 horas.

5.2.2 Personal que labora en el servicio de Bioquímica:

- Personal médico: Jefe del servicio de Bioquímica Clínica.
- Personal profesional de la Salud: Licenciado Tecnólogo Médico.
- Personal técnico: Técnico de Laboratorio.

5.2.3 Uniforme del personal:

El personal del servicio de Bioquímica Clínica deberá desarrollar sus funciones utilizando el siguiente uniforme:

a) Chaqueta azul acero para el Tecnólogo Medico, scraps del mismo color y mandil blanco membretado.

b) Chaqueta celeste para el técnico de laboratorio, scraps de color azul oscuro y mandil blanco.

c) Queda bajo responsabilidad del trabajador, encontrarse en buena condición de presentación y limpieza.

5.2.4 Uso de formatos del servicio de Bioquímica Clínica:

- Para solicitar los análisis clínicos, propios del servicio, se utilizará el Formato de "**Solicitud de Análisis".**
- El formato de solicitud deberá ser utilizado para el servicio de los pacientes ambulatorios, hospitalizados, de emergencia, urgencia, reposo de damas y varones, traumashock, UCI, UCIN, debiendo estar correctamente llenados por el médico tratante.
- Todo resultado de análisis clínico efectuado en el servicio se deberá entregar en forma inmediata por la intranet del Hospital, priorizando al servicio de Traumashock, UCI, UCIN, Pediatría, reposo de varones y de mujeres, o de acuerdo al criterio de pruebas, como gases arteriales, glucosa, marcadores cardiacos, βHCG y otros.
- Los resultados bioquímicos serán reportados en el formato que figura en el LIS SIGLA. Impresos únicamente en pacientes hospitalizados como Neurocirugía y Pediatría, priorizando según lo establecido, firmado por la jefatura del Departamento de Patología Clínica.
- Los resultados obtenidos en el servicio, deberán ser transcritos en la solicitud visando la hora de reporte por el Tecnólogo Médico responsable y la identificación respectiva del profesional.

5.2.5 Notificación de resultados:

Todo resultado de análisis efectuado en el Servicio será remitido con la firma y sello del Médico de guardia y/o Tecnólogo Médico responsable, excepto en las guardias nocturnas y dominicales que serán por el Tecnólogo Medico Jefe de Guardia.

Las pruebas que presentasen un resultado no compatible con el cuadro clínico del paciente deberán:

- Notificarse al Jefe del Servicio, para que éste vea el cuadro clínico del paciente y realice la interconsulta respectiva.
- Tomar una segunda muestra para verificar si el resultado obtenido anteriormente es fidedigno.

5.2.6 De las funciones del personal del servicio:

Son funciones del Médico Patólogo Clínico del Servicio:

- Verificar los resultados de las pruebas efectuadas en el Servicio con su firma y sello respectivo.
- Supervisar la labor efectuada por el personal del Servicio.
- Solicitar y abastecer el requerimiento de insumos y reactivos oportunos para el trabajo propio del Servicio.
- Controlar el adecuado funcionamiento de los equipos, así como efectuar la programación anual para su mantenimiento preventivo y oportuno.
- Resolver las dudas planteadas al Servicio por los médicos tratantes respecto a resultados obtenidos en los pacientes.
- Planificar el cuadro de control de calidad integral del servicio.
- Verificar el correcto uso de los reactivos implementados en el servicio.
- Revisar los cuadernos y registros del Servicio para verificar su correcto llenado.

Son funciones del profesional Licenciado Tecnólogo Médico:

- Integrar el comité de control de calidad de los reactivos del servicio.
- Aplicar las buenas prácticas de los procedimiento bioquímicos.
- Aplicar las buenas prácticas de mantenimiento de los materiales y equipos.
- Aprobar o visar los resultados bioquímicos a su cargo.
- Notificar la carencia de reactivos e insumos bioquímicos a la jefatura del servicio.
- Efectuar el control de calidad interno del Servicio.
- Efectuar el control de calidad interlaboratorial del servicio.
- Efectuar el control de calidad externo del servicio.
- Implementar las técnicas nuevas de las pruebas bioquímicas.
- Procesar las pruebas especiales según sea solicitado al servicio.
- Prestar asesoría tecnológica a los usuarios del servicio.
- Relevar sus funciones al término de guardia con su equivalente.

- Otras que considere necesario el Médico Jefe del Servicio.
- Verificar las validaciones de métodos y equipos nuevos.

Son funciones del personal Técnico del Servicio:

- Reemplazar en las vacaciones o licencias al personal de bioquímica.
- Elaborar la estadística mensual del Servicio.
- Procesar las pruebas básicas del servicio, según sea solicitado.
- Controlar y ordenar la documentación del Servicio.
- Elaborar las estadísticas del trabajo mensual.
- Notificar las necesidades logísticas y técnicas del servicio.
- Otras que considere necesario el Tecnólogo médico y el Médico Jefe del Servicio.

5.2.7 Disposiciones complementarias:

Cualquier eventualidad no contemplada en el presente manual, estará sujeta al Manual de Normas y Procedimientos (MAPRO) del Departamento de Patología Clínica.

5.3 PROCEDIMIENTOS ADMINISTRATIVOS Y TECNICOS DEL SERVICIO

5.3.1 BIOSEGURIDAD EN EL SERVICIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA:

1. El personal del área analítica de Bioquímica Clínica, debe tener conocimiento de los riesgos biológicos que se presentan al laborar en un laboratorio clínico, y ampliará sus conocimientos académicos al respecto mediante la lectura periódica y puesto en práctica de lo establecido en el Manual de Bioseguridad del Departamento de Patología Clínica.
2. El personal mantendrá el área de trabajo, limpia y ordenada, y el almacenamiento de material o elementos que no están en relación al trabajo, debe ser minimizado.
3. El personal, usará el uniforme y mandil protector asignado, el cual mantendrán limpio y en buen estado. Este uniforme será usado exclusivamente en el área de Bioquímica Clínica. Al retirarse del servicio dejar su mandil colgado, para cuando ingrese, usarlo nuevamente.
4. Los zapatos que usarán serán cerrados, con suela anti deslizable (prohibido usar zapatillas y tacos mayor a 6 en mujeres).

5. El personal usará guantes en todo proceso que implique contacto directo con la piel, toxinas, sangre y otros líquidos corporales, o material infeccioso.
6. No se usarán anillos o cualquier otro accesorio de mano que interfiera con la función de los guantes. Los guantes se quitarán cuidadosamente y serán eliminados en el recipiente para residuos contaminados.
7. Si se prevé que en el proceso hay riesgo de salpicaduras, impacto de objetos o sustancias dañinas, UV u otros rayos, el personal usará protectores faciales y oculares.
8. Dentro del servicio, está totalmente prohibido comer, beber, fumar, guardar alimentos, prendas y objetos de uso personal, aplicarse cosméticos o quitarse/ponerse los lentes de contacto.
9. Está totalmente prohibido el pipeteo oral de cualquier sustancia.
10. El personal femenino que tuviera cabellos largos, se lo recogerá adecuadamente hacia atrás.
11. El personal se lavará las manos cuando se quite los guantes, antes de salir del laboratorio y cada vez que manipule material que sospeche esté contaminado.
12. Las superficies de las áreas de trabajo deben ser limpiadas con un desinfectante adecuado, antes y después de las labores y en especial en caso de derrames.
13. Todas las muestras serán centrifugadas tapadas, inclusive durante la permanencia en el servicio seguirán tapadas de tal manera que se minimice la producción de aerosoles y la contaminación de la muestras.
14. Toda muestra, material o desecho, deben ser eliminados en los envases o recipientes asignados según el manual de eliminación de desechos orgánicos y residuos sólidos del Departamento de Patología Clínica. Es decir los materiales usados no biológicos como papeles de oficina, bolsas, empaques, deben ser eliminados en bolsas negras; mientras que, los materiales contaminados biológicamente, en las bolsas rojas; y en los envases plásticos verdes, de ser el caso, los materiales punzocortantes, los mismos que, pueden ser eliminados en contenedores rígidos que debe contener un límite de llenado. Finalmente en las bolsas amarillas reciclar materiales no contaminados biológicamente como pilas, frascos de reactivos químicos, envases de reactivos no biológicos.
15. El personal tendrá sumo cuidado durante la manipulación de agujas y lancetas con el fin de evitar el auto inoculación. Las agujas y lancetas serán descartables una vez usadas en cada paciente. Las agujas usadas se eliminarán con la técnica de una mano en recipientes rígidos con tapa

y que contengan un desinfectante. Las lancetas se descartarán en los mismos recipientes.

16. El personal notificará inmediatamente por escrito a la Jefatura todo accidente de trabajo, a fin de tomar las medidas del caso lo antes posible (ver Manual de Bioseguridad).

5.3.2 USO DE REFRIGERADORAS Y CONGELADORAS:

1. Se usará la refrigeradora y la congeladora solamente para guardar los reactivos utilizados en el servicio que requieran refrigeración. Por ningún motivo se guardarán en ellas alimentos o sustancias inflamables, bajo responsabilidad.
2. Todo reactivo o muestra que se almacene para su refrigeración o congelación, debe estar bien tapado y debidamente rotulado (el nombre del reactivo y en el caso de las muestras, el tipo, nombre del paciente y la fecha de la toma de muestra).
3. El descarte de muestras será después de confirmar los resultados o procesar otras pruebas solicitadas y los reactivos que no cumplan con su desempeño y su fecha de vencimiento.
4. Mantener un registro actualizado de la ubicación de los reactivos y muestras en la puerta del refrigerador o la congeladora.
5. El descongelamiento y limpieza de las refrigeradoras y congeladoras es de responsabilidad del personal del servicio y debe realizarse en forma periódica. Los reactivos almacenados en estos equipos deberán ser ubicados en otros equipos, manteniendo la cadena de frio, mientras a los primeros se les efectúe la limpieza respectiva.
6. Sólo cuando la refrigeradora o la congeladora estén completamente secas, se podrá volver a hacer la conexión a la corriente eléctrica. En el caso de las congeladoras tomará varias horas, probablemente toda la noche, antes de que se alcance la temperatura deseada.
7. Llevar un registro diario de la temperatura tanto en las refrigeradoras como en las congeladoras, usando termómetros calibrados para controlar la T° confirmatoria.

5.3.3 IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE Y DE LOS ANÁLISIS SOLICITADOS:

- **PACIENTES AMBULATORIOS**

1. Antes de tomar la muestra, el personal encargado le pedirá al paciente la solicitud de laboratorio en la cual enumeran las pruebas y las respectivas modalidades de atención: SIS, particular y el documento de identidad, a fin de verificar:

- La identificación del paciente.
- Que el nombre completo del paciente esté escrito correctamente y de acuerdo con su documento de identidad, tanto en la solicitud de pruebas como en la papeleta de atención por el laboratorio.
- Que el número de papeleta de atención por el laboratorio esté copiado correctamente en la orden de solicitud de pruebas de laboratorio.
- Que las pruebas señaladas en la orden de solicitud por el profesional médico estén correctamente transcritas.

2. De encontrar alguna irregularidad durante las verificaciones, el personal pedirá al paciente que le acompañe al área de emisión de papeletas de atención por el laboratorio y dará parte de la novedad al Técnico Encargado a fin de dar solución inmediata a la irregularidad para continuar con la toma de muestra.

- **PACIENTES HOSPITALIZADOS**

Antes de la toma de muestra, el personal del laboratorio encargado de este procedimiento, verificará:

1. En el caso de los pacientes lúcidos, le preguntará su nombre completo a fin de verificar si es el mismo que está escrito en la orden de solicitud de análisis, de ser así, procederá a la toma de muestra, de lo contrario le preguntará a la Enfermera de la sección la ubicación del paciente a quien debe tomar la muestra de acuerdo a la orden escrita solicitada por el profesional médico. En el caso de pacientes no lúcidos, esta verificación la realizará con la Licenciada en Enfermería de la sección a la cual pertenece el paciente.
2. Que la solicitud de pruebas del profesional médico contenga el número de papeleta de atención por el laboratorio

5.3.4 OBTENCIÓN DE MUESTRAS:

- **RECEPCIÓN DE LAS MUESTRAS DE SANGRE**

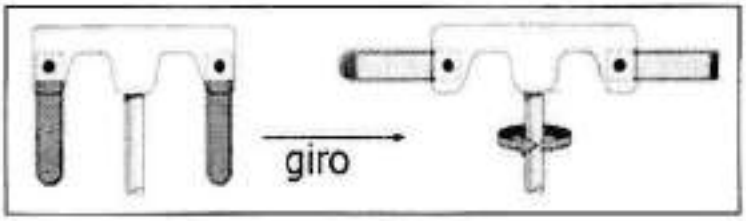
La muestra al ser recibida por el personal del servicio deben observar que se encuentre en el tubo apropiado e identificadas por un código de barras y en buenas condiciones.

Los tubos conteniendo el volumen de muestras sin anticoagulante y gel separador, deben reposar durante 10 minutos, previo a su centrifugación, a fin de que se retraiga el coágulo para obtener una muestra sérica limpida, libre de micro fibrina, hemólisis y turbidez.

- **OTROS LÍQUIDOS CORPORALES**

Muestras como orina de 24 horas, líquidos biológicos tipo exudado o trasudado serán recolectadas por el personal médico / enfermería y enviadas al laboratorio por su personal, previa información y coordinación que incluye material adecuado para su recolección.

- **CENTRIFUGACIÓN**



CABEZALES BASCULANTES

CABEZAL FIJO

Para el caso del servicio, contamos con la centrifuga con cabezal de ángulo fijo para la centrifugación de orinas y otros fluidos corporales.

Centrifugar a 3500 rpm máximo por 6 minutos según cálculos de rpm por radio y RCF.

Centrifugar siempre con el tubo tapado para evitar la propagación de aerosoles.

En caso de ruptura de tubos dentro de la centrifuga en pleno funcionamiento, apagarla inmediatamente, pero no abrirla sino hasta después de una hora, para evitar una mayor dispersión de los aerosoles en el ambiente.

Al final de cada turno laboral y también cada vez que haya contaminación con algún líquido corporal, el personal dejará la centrifuga limpia y desinfectada, para tal fin se usará el desinfectante recomendado por el fabricante, y procederá siempre practicando las normas de bioseguridad.

5.3.5 EQUIPOSDEL SERVICIO DE BIOQUIMICA

Se procesarán las muestras en los equipos de Bioquímica Clínica del servicio, de acuerdo a las pruebas solicitadas por el profesional médico. El procesamiento incluye tanto pruebas en sangre como en otros líquidos corporales.

Se dará prioridad de procesamiento a aquellas muestras con pruebas solicitadas por el profesional médico como urgentes.

5.3.5.1 MICROLAB 300

El MicroLab 300 es un analizador de pruebas de bioquímica clínica semiautomático, con un sistema diseñado como analizador de tipo superior a un fotómetro estándar.

Su sencillez y versatilidad permiten manejar todos los requisitos exigentes de un laboratorio de ensayo con la ventaja en el aumento de la productividad. Además, proporciona la función de back-up por ser considerado un "todo terreno".

Es un analizador capaz de cumplir con todos los requerimientos rutinarios y de urgencias médicas en un laboratorio. Su avanzado software y su sistema de aspiración con una rueda de filtros de 6 posiciones y el ajuste de lámpara, cumple con los requisitos exigentes del laboratorio moderno.

ESPECIFICACIONES TÉCNICAS:

- **Fuente de luz:** Lámpara halógena de cuarzo de 12 V- 20W.
- **Longitud de onda:** Rueda de filtros de 12 posiciones:
    - 6 filtros de interferencia estándar: 340, 405, 505, 546, 578 y 620 nm.
    - 6 posiciones para filtros opcionales.
- **Rango Fotométrico:** -0,1 a 2,3 mu de Absorbancia.
- **Detector:** Fotodiodo (320 - 1000 nm).
- **Blanco:** Ajuste automático de cero.
- **Interfaz de operador:**
    - Teclado de membrana, para la función directa y alfa numérica de entrada.
    - Opcional teclado externo.
    - Alto contraste pantalla LCD gráfica.
    - Reloj en tiempo real, las 24 horas del sistema.
- **Idiomas:** Inglés; Español; Francés; Alemán; Portugués, otros idiomas a solicitud.
- **Procedimientos de mediciones**

- Cinético, con verificación de la linealidad.
- Cinético, con verificación de la linealidad y muestra blanco.
- Dos puntos cinético, con o sin blanco reactivo.
- Punto final, con o sin blanco de reactivo.
- Dicromático punto final, con o sin blanco de reactivo;
- Punto final c/blanco de muestra, con o sin blanco de reactivo.

- **Pruebas múltiples**
  - Hasta nueve repeticiones;
  - Medias, SD y CV.

- **Tiempo de Medición:**
  - Programables, de 2 a 998 segundos para pruebas cinética y de dos punto.
  - Punto final fijado en 2 segundos.

- **Tiempo de retardo:**
  - Programable, 0 a 999 segundos.

- **Calibración**
  - Factor, de un punto, dos puntos y multipunto.
  - Automática el modo lineal.
  - Automático a un máximo de 10 estándares (modo no lineal).
  - Calibración del equipo y analito: Estos procedimientos se describen en el manual de los equipos del servicio y también en el respectivo inserto de cada reactivo.

- **Control de Calidad**
  - Dos controles internos por prueba.
  - Control de calidad de las ultimas 30 mediciones.
  - Curvas de Levey Jenning.
  - Los Control de Calidad: Se realizan todo los dias y de acuerdo a los pasos indicados en el inserto, como se indica en el Manual de Calidad del servicio de Patología Clínica.

- **Celda de Flujo:**
  - Metal, con ventanas de cuarzo, volumen de 30 µL.

- **Control de temperatura**

- Por medio de elemento Peltier.
- Fija la temperatura a 37 °C.

• Sistema de aspiración

- Interior de la bomba de tipo fuelle, impulsado por motor paso a paso.
- Conexión para residuos en el panel posterior.
- Aspiración volumen mínimo de 250 uL.

• Impresora

- Interior de impresoras matriciales;
- Papel normal A3
- Opcional puerto a impresora disponible.

• Interfaz de señal

- Tipo Centronics puerto paralelo.
- Tipo RS 232 puerto serie.
- PS 2 tipo de puerto para teclado externo.

• Requerimientos de energía

- 100-240 VAC, 50/60 Hz.
- Batería de back-up para conservar los datos.

• Dimensiones:

- 40 x 17 x 36,5 cm (W x alto x D).

• Peso:

- 8,5 kg.

5.3.5.2 VITROS® 350 – Ortho Clinical Diagnostics

Este método analítico trabaja bajo la presentación de química seca, la misma que, se fundamenta en la reflectometría, la misma que, permite medir por reflexión de la luz en una determinada longitud de onda, los cambios en su intensidad reflejada, producto de la reacción química en slides. La incorporación de un microprocesador al equipo, permite simplificar en grado sumo e incluso omitir, muchos pasos en el procedimiento operativo y en la calibración. La facilidad de operación de los instrumentos de este tipo, unida al pequeño espacio requerido para el almacenamiento de los slides, y al hecho de que la calibración del equipo es estable por largo tiempo, hace que este método se considere ideal en el laboratorio de emergencia.

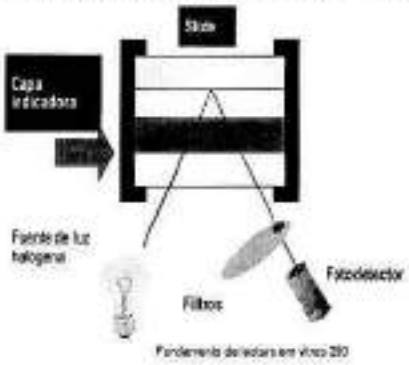
El corazón del Reflectómetro está constituido por la llamada esfera de Ulbricht, la cual contiene una fuente de emisión de luz en una determinada longitud de onda, constituida en algunos sistemas por un diodo y en otros, por una lámpara de arco de xenón. El rayo emitido incide sobre el área de lectura del slide y es reflejado por ésta.

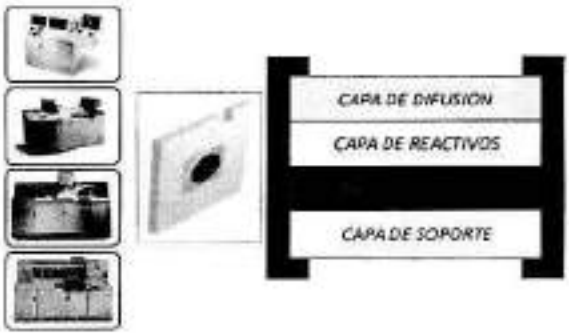
Los detectores comparan la intensidad de la luz emitida por el diodo emisor con la de la luz reflejada. Mientras mayor sea esta última, menor será la concentración del analito.

Algunos sistemas sólo pueden realizar determinaciones colorimétricas, mientras que otros pueden llevar a cabo análisis enzimáticos.

Toda la información que el equipo requiere, está contenida en el código magnético de la tira: identificación del analito, duración de la fase de pre incubación y de reacción, longitud de onda requerida, número de mediciones e intervalo entre ellas, cálculo de los resultados y factores de conversión.

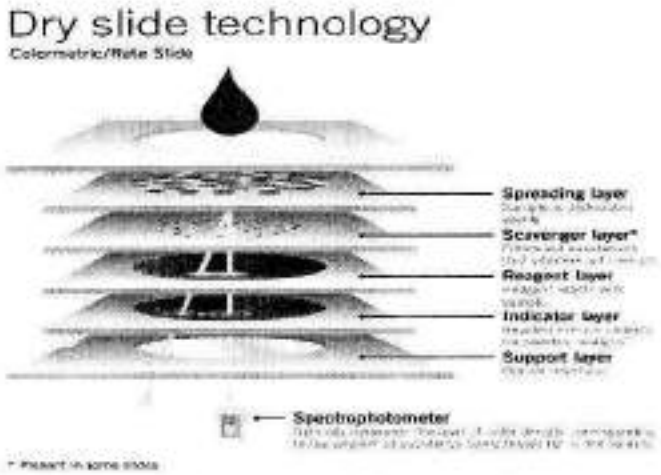
Espectrofotometría de reflectancia





La tecnología VITROS®350 MicroSlide ofrece un entorno de pruebas integrado completo en un fragmento fino de película. En ella se combinan de forma discreta capas de difusión, enmascaramiento, depuración y reactivos en un slide con el tamaño de un sello postal para

obtener resultados con una precisión y una exactitud de primera clase. Cuando entran en contacto el plasma, el suero, la orina o el líquido cefalorraquídeo con estas capas bioquímicas secas, se produce una reacción espectral que el sistema puede medir. Esta tecnología de slide en seco por capas habilita dominios de reacciones independientes, lo cual aprovecha al máximo cada paso para que el rendimiento del ensayo sea excepcional



Procedimiento para las pruebas incorporadas:

Después de extraer la muestra de sangre venosa en tubo de tapa roja/amarilla (sin anticoagulante), y de separar el suero de los glóbulos rojos mediante centrifugación a 3500 rpm x 10 minutos; colocar el tubo primario de la muestra a procesar en el portatubo del equipo previo registro en el sistema.

En caso de que la muestra de suero obtenida sea escasa trasvasar el contenido a uno de los recipientes que tiene el equipo en forma de copitas.

En caso de muestras hemolizadas, ictéricas y lipémicas procesar si el grado de estos interferentes son de intensidad baja a moderada, de lo contrario descartar la muestra. Por defecto el equipo tiene la propiedad de filtrar estas anomalías por una capa de filtración en la estructura del slide, pero por criterios de calidad y por los indicadores establecidos, con presencia alta de interferentes, se rechaza la muestra.

Pulsar la pantalla digital del equipo donde indique el(los) analito(s) a procesar así como para el ingreso de la muestra y dar inicio al proceso.

Una vez obtenido el resultado que es mostrado en la pantalla digital del equipo, se procederá a validar el mismo que previamente ha hecho interfaz desde el analizador al LIS, caso contrario, transcribirlo al sistema LIS de laboratorio.

Verificación del Método: Se procede a cumplir las instrucciones y especificaciones de la Guia SCLI EP15-A3 en forma aceptada.

Calibración del equipo y de los analitos: Todo mantenimiento del equipo incluyendo cambios o reposición de partes; se procederá a su calibración, más aun en los cambios de lotes de los reactivos a bordo según lo indicado en el inserto de cada reactivo.

Control de Calidad: Hace referencia al CCI. CC Interlaboratorial. CCE. Los dos primeros, se realizarán todos los días, además el CCE se realizara periódicamente de acuerdo a los pasos indicados en el manual de calidad de Bioquímica.

Tipos de muestra: Suero, plasma, orina, LCR.

Volumen de muestra: 5–11 µL.

Capacidad de muestras: 40 muestras (4 rotores de 10 muestras).

Recipientes de muestras:

- Tubos de recogida de 10 mL, 7 mL, 5 mL y 2–4 mL
- Microtubo de 1 mL
- Copas Microsample de 0,5 mL y 2 mL

Gestión de muestras:

- Detección de coágulos.
- Detección de burbujas.
- Detección de nivel de líquido (transductor de presión).
- Detección de muestra insuficiente.

Tiempo de procesamiento:

- Tiempo para obtener resultados separados: De 2,5 a 8 minutos.
    - Potenciométrico: ~ 2,5 minutos
    - Colorimétrico: ~ 5 minutos
    - Inmunoenzimática: ~ 8 minutos

Seguridad Avanzada:

- Capacidad de procesamiento única de muestras, incluye el uso de puntas individuales descartables, así como detección de coágulos y burbujas para reporte de resultados confiables.

- Tecnología MicroSlide que minimiza interferencias introduciendo capas que capturan y limpian sustancias interferentes.

Eficiencia Optimizada:

- Más de 60 posiciones de reactivos a bordo con un amplio menú accesible para entregar resultados inmediatos para pruebas de rutina o de urgencia (STAT).
- Operación manos libres y procedimientos simples que permiten disponibilidad del personal de laboratorio.

Costo Efectividad

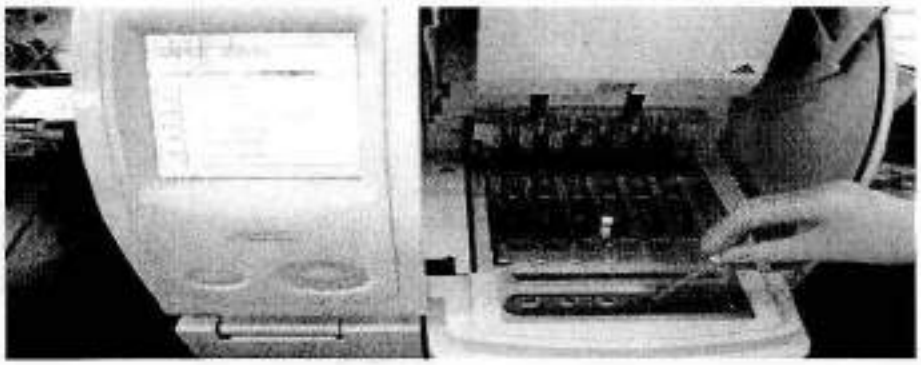
- Bajos costos por resultado reportable y alta eficiencia de reactivos sin los costos de preparación, mantenimiento, contaminación por arrastre o interferencias, asociados con sistemas tradicionales basados en agua
- Reactivos estandarizados, usando los mismos cartuchos de reactivos en todos los Sistemas VITROS®.
- Rendimiento de hasta 300 pruebas por hora.
- Sin necesidad de preparar reactivos y sin residuos.
- No se requiere agua, instalaciones de plomería ni drenajes.
- Sin electrodos que mantener. Sin bombas ni tuberías.
- Hasta 12 a 24 meses de vida útil.
- Estabilidad de calibración excepcional.
- Espacio de almacenamiento mínimo.
- Reduce el número de tareas manuales con diluciones de orina automáticas y diluciones de suero bajo demanda.

5.3.5.3 Inmunoanalizador compacto PATHFAST, para la determinación de marcadores cardiacos, hemostásicos y de gravidez.

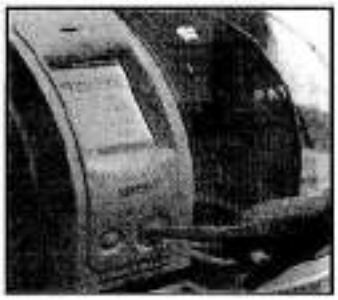
El PathFast, es un equipo automatizado que se fundamenta en los principios de la quimioinmunoluminiscencia, es decir se produce un inmunoensayo enzimático quimioluminiscente (CLEIA), por el cual, actualmente, se determinan de manera cuantitativa los siguientes marcadores biológicos:

- Troponina I.
- Dímero D.
- NT-proBNP.
- βHCG cuantitativa.

Un cartucho individualizado para Pathfast



Equipo de quimioluminiscencia PathFast: Zona de trabajo



Procesamiento Automático

Volumen: 100 ul
6 pruebas en simultáneo

Tips descartables
No reactivos

Procedimiento de las pruebas incorporadas

- Extraer muestra de sangre venosa en tubo con anticoagulante EDTA (tapa lila) o Heparina de litio (tapa verde). En el caso del D-Dímero extraer la muestra en citrato de sodio (tapa celeste). Excepcionalmente se usa suero para la prueba de βHCG.
- Sacar el/los cartuchos a usar, de la refrigeradora (Los cartuchos deben conservarse en refrigeración, de 2-8 grados).
- Programar en el equipo el examen solicitado.
- Abrir la cubierta delantera del instrumento y retire el bastidor de cartuchos de reactivos.
- Homogeneizar el tubo de muestra 8 veces, para que se mezclen adecuadamente la sangre y el anticoagulante.

- Dispense 100 µL de muestra en el pocillo de muestras del cartucho de reactivos. Elimine cualquier burbuja antes de ejecutar el ensayo.
- Abrir la cubierta delantera del instrumento y coloque el bastidor de cartuchos de reactivos correctamente en su sitio.
- Tomar las puntas desechables de la caja de puntas y colóquelas en los agujeros del soporte de puntas de PATHFAST para las vias en las que se colocan cartuchos de reactivos. Cuidado que los extremos de las puntas no estén sucios o dañados.
- Pulsar el botón "INICIO - START" en el instrumento para comenzar la ejecución del ensayo.
- Durante la realización del ensayo, la información de la muestra puede editarse después de que haya comenzado la ejecución de un ensayo.
- Cuando se termina la ejecución del ensayo, los resultados medidos se imprimen en la impresora incorporada.
- Al finalizar el ensayo el equipo coloca las puntas desechables en el Depósito de Puntas, abra la cubierta delantera completamente y deseche las puntas y los cartuchos empleados.
- Registrar los resultados al sistema SIGLA.

Conservación de los Reactivos

- Seguir las instrucciones del inserto de cada reactivo (conservar a 2 -8° C hasta la fecha de caducidad).
- En el inserto verificar el número de lote y la fecha de expiración, además cualquier alteración de su empaque fisico.

Calibración del equipo y analito: Este procedimiento se procede cada dos meses según se describe en el manual del fabricante del equipo y también cuando hay cambios de lote de cada reactivo.

Control de Calidad: Se realiza una vez al mes los controles internos y los interlaboratoriales por tener una buena estabilidad en el tiempo, además de los CCE como se programa en el Manual de Calidad de Bioquímica.

Dimensiones: 510 x 375 x 570 mm

Peso: 33 kilogramos.

Fuente de alimentación: 100 – 240 V, CA 50/60 Hz.

Análisis, datos del paciente, datos de calibración de reinicio y fecha de vencimiento del reactivo, se suministran a través de un código de barras, llamada curva maestra.

Sistema de medida de rango dinámico amplio: El sistema de detección consiste en un fotomultiplicador completo con un obturador de iris. El recuento de los fotones en cada segundo, permite la detección de concentraciones extremadamente bajas con precisión y alta reproducibilidad.

Ausencia de contaminación cruzada: Ausencia de contaminación cruzada entre muestras, gracias al uso de materiales desechables y cartuchos de reactivos de prueba única.

Software de Gestión: Intuitivo y fácil de usar (interfaz de operación táctil), pantalla a color, permite ver lotes, fechas de vencimiento de cartuchos de reactivos, calibraciones llevadas a cabo, resultados, registros de pacientes; permite gestionar controles de calidad, usuarios, establecer intervalos de referencia y factores de correlación. Permite que el resultado sea recalculado a posteriori utilizando el valor real de hematocrito del paciente. Los mensajes de posibles errores de funcionamiento se muestran en la pantalla y también contienen instrucciones sobre la acción correctiva por llevar a cabo.

Longitud de onda: 300 – 650nm (pico de sensibilidad 461 nm).

Sistema de muestreo: Por punta desechable (25 µl dosificado).

Temperatura de reacción: 37.5°C.

Manejo de lotes / reactivos: Identificación automática del cartucho de reactivo con código de barras.

Calibraciones: Calibración maestra predeterminada en 6 puntos, doble calibración mensual en 2 puntos.

Capacidad de memoria de datos:

- Datos del paciente: hasta 1000
- Datos de control de calidad: hasta 1800
- Datos de CAL: hasta 300

Impresora: Impresora térmica incorporada.

5.3.5.4 GEM PREMIER 5000 PARA GASOMETRÍA Y MEDIO INTERNO

El sistema de análisis de gasometría y medio interno, GEM Premier 5000 proporciona una garantía de calidad automatizada con cada muestra. Ahora con el sistema Intelligent Quality Management (iQM2) de nueva generación, que incluye la nueva tecnología IntraSpect™, se detectan posibles errores no sólo antes y después, sino también durante el análisis de la muestra, junto con la corrección y documentación en tiempo real. Además, es sencillo ya que sólo es

necesario cambiar el cartucho GEM PAK multifunción una vez al mes. Por tanto, independientemente de la ubicación del análisis o del operador en el punto de atención, la calidad de los resultados y el cumplimiento están asegurados con cada muestra con el sistema GEM Premier 5000 portátil.

El sistema de análisis de sangre total GEM Premier 5000 mide los gases en sangre, pH, electrolitos, metabolitos, co-oximetria y más parámetros. El iQM2 garantiza la calidad analítica de los resultados en tiempo real, el GEM PAK multiuso y multifunción garantiza la máxima simplicidad operativa y GEM web Plus Custom Connectivity permite el control del diagnóstico inmediato.

A diferencia de los métodos tradicionales, esta tecnología detecta en pocos minutos la respuesta anormal del sensor o los errores transitorios durante el proceso de medición que son causados por microcoágulos, microburbujas o interferencias. Los resultados rápidos y precisos, eliminan las repeticiones innecesarias de los exámenes, facilitan la toma de decisiones y mejoran la eficiencia y la atención al paciente.

Producción: Hasta 29 muestras por horas.

Puede trabajar entre 12 – 32°C, entre 15 – 85% de humedad.

Fuente de alimentación: 220 V.

Analitos medidos: pH, pCO_2, pO_2, Na^+, K^+, Ca^{++}, Cl^-, Glu, Lac, Hct, tHb, O2Hb, COHb, MetHb, HHb, tBili, sO_2‡.

Parámetros derivados (calculados): BE(B), BE(ecf), tHb(c), Ca^{++}, Anion gap (AG), P/F ratio, pAO_2, CaO_2, CvO_2, p50, O_2cap, sO_2(c), O_2ct, HCO_3^- std, TCO_2, HCO_3^-(c), A-aDO_2, paO_2/pAO_2, RI, CcO_2, a-vDO_2, Qsp/Qt (est), Qsp/Qt, Hct(c).

Metodologías de medición:

- **Amperométrico:** pO_2, glucosa y lactato.
- **Potenciométrico:** pH, pCO_2, Na^+, K^+, Cl^-, Ca^{+2}.
- **Conductividad:** Hematócrito.
- **Medición óptica post lisis química de los glóbulos rojos:** tHb, O_2Hb, COHb, MetHb, sO_2, HHb, tBil.
- **Otros parámetros calculados.**

Vida útil a bordo del analizador: Hasta 31 días.

Capacidad de memoria de datos:

- Datos del paciente: hasta 1000

- Datos de control de calidad: hasta 1800

- Datos de CAL: hasta 300

Impresora: Impresora térmica incorporada.

Fuente de alimentación: 100 – 240 V, CA 50/60 Hz.

5.3.5.5 Edan i15 para Gasometría y Medio Interno

El gasómetro Edan i15, analiza pH, pCO_2, pO_2, Na^+, K^+, Cl^-, Ca^{+2}, glucosa, lactato, hematocrito. El analizador utiliza un pack de reactivos desechable con solución de lavado, calibradores tonometrados y contenedor para residuos. No necesita bomba de gas. Este diseño evita el riesgo de contaminación biológica y ambiental. El mantenimiento rutinario se limita cambio de pack de reactivos, una vez al mes. El diseño de tarjetas sensoras desechables, combinado con el módulo de reactivos de capacidad variable según el número de muestras diarias, aseguran un funcionamiento económico y de bajo costo por muestra.

Éste, es un analizador POCT, diseñado especialmente para urgencias, es portátil, fácil de usar y realiza paneles de pruebas flexibles con tarjetas desechables, aportando una nueva era en el análisis de gases en sangre, ya que permite controlar y gestionar de forma más rápida y eficaz, las muestras de los pacientes.

Características:

- Práctico paquete de reactivos para 50 – 100 muestras.
- QC: 3 – 5 niveles de control.
- Lector de códigos de barra incorporado.
- Pantalla táctil de fácil uso.
- 06 tipos de tarjetas con parámetros multicombinables.
- Aspiración de muestra de manera automática.
- Impresora de papel térmico incorporada.
- Bajo costo por test.

Parámetros medidos: pH, pO_2, pCO_2, Na^+, K^+, Cl^-, Ca^{+2}, glucosa, lactato, hematocrito.

Parámetros calculados:

- Bicarbonato actual.
- Bicarbonato estándar.
- Exceso de base.
- Exceso de base estándar.

- Gradiente de tensión arterio – alveolar.
- Gradiente de tensión del oxígeno alveolo – arterial.
- Índice respiratorio.

Tipo de muestras: Sangre arterial o capilar.

Volumen de muestras: 140 µL.

Tiempo de análisis: 01 minuto.

Calibración: Automática con cada muestra.

Tamaño: 238 mm de ancho por 153 mm de alto por 310 mm fondo.

Peso: 3.65 Kg con el módulo de reactivos.

Impresora: Impresora térmica incorporada.

Fuente de alimentación: 100 – 240 V, CA 50/60 Hz.

5.4 DETERMINACIÓN DE GASOMETRÍA, ELECTROLITOS, LACTATO, Y CA^{2+} (CALCIO IÓNICO)

DESCRIPCIÓN:

La ***gasometría arterial*** y/o ***venosa***, mide el oxígeno y dióxido de carbono disuelto en la sangre arterial y pone de manifiesto el estado ácido-base y qué tan bien el oxígeno es transportado por el cuerpo. El ***pH*** es la medición de la concentración de iones H^+ libre en la sangre circulante. El organismo requiere que el pH se mantenga constante. Los riñones y los pulmones regulan el pH al preservar la proporción ácido/base. Cualquier alteración en la relación entre bicarbonato y ácido carbónico va a provocar un cambio recíproco en la liberación o absorción de H^+ libres, alterando así el valor del pH. Ambos ***bicarbonato*** (***HCO3-***) y el ácido carbónico (H2CO3) son los componentes del cuerpo del sistema ácido-base que influyen en el pH. La ***presión parcial de dióxido de carbono*** (***PCO_2, $PaCO_2$***) es la cantidad de dióxido de carbono en la sangre basado en la presión que ejerce en el torrente sanguíneo y representa el grado de ventilación alveolar. Cuando disminuye el pH, más CO2 se separa del ácido carbónico y es exhalado por los pulmones, para contrarrestar la reducción de pH y el aumento de la tasa de respiración. La ***presión parcial de oxígeno*** (***PO_2, PaO_2***) es la cantidad de oxígeno disuelto en el plasma y representa la situación de intercambio de gas alveolar con aire inspirado. La ***saturación de oxígeno*** (O_2Sat) es la cantidad de oxígeno realmente vinculado a la hemoglobina (como porcentaje del importe máximo que podría estar obligado) y disponible para el transporte en todo el cuerpo. SaO2 se aplica a la saturación arterial de hemoglobina.

El ***sodio*** es el principal catión del líquido extracelular. Su función principal es mantener la presión osmótica y ácido-base y equilibrio de transmitir los impulsos nerviosos. En condiciones normales de pacientes, el contenido de

sodio del cuerpo se mantiene bastante constante a pesar de grandes variaciones en la ingesta de sodio. Los niveles de sodio urinario se utilizan en conjunción con la orina y el plasma o los niveles de Creatinina sérica en dos fórmulas que ayuden a reducir la fuente de insuficiencia renal en causas prerrenales, renales y postrenales. El ***potasio*** es el principal catión intracelular. Es el responsable de la regulación del equilibrio hídrico celular, la conducción eléctrica en las células musculares, y la homeostasis ácido-base. Los niveles séricos de potasio se utilizan en la evaluación de los pacientes con arritmias cardiacas, disfunción renal, confusión mental, desordenes gastrointestinales, por vía intravenosa y en terapia de reemplazo. El ***cloro*** es el anión más abundante en el liquido extracelular. Funciona en contra el equilibrio de cationes como sodio y también actúa como un amortiguador durante el intercambio oxigeno / dióxido de carbono en los glóbulos rojos. Ayuda también en la digestión, presión osmótica, y el balance hídrico. Se mide en suero, junto con otros electrolitos, para evaluar el equilibrio ácido-base.

El ***calcio*** en el suero existe ***ionizado***, unido a aniones orgánicos como fosfato y citrato, unido a proteínas (principalmente a albúmina). De estos, el **calcio iónico** es la forma fisiológicamente activa y representa alrededor del 50% del **calcio** total. Su medición es preferible en las siguientes situaciones: neonatos, mujeres embarazadas, disproteinemias, transfusiones sanguíneas, hipercalcemia maligna, síntomas de hiperparatiroidismo. La disminución de calcio iónico puede provocar tetania, independientemente del valor del calcio total. Este test, permite evaluar el nivel de calcio fisiológicamente activo en pacientes con alteraciones proteicas, insuficiencia renal crónica, síndrome nefrótico, síndrome de malabsorción, estados postoperatorios, mieloma múltiple o con trastornos del equilibrio ácido-base. Está indicado en pacientes con sepsis, pancreatitis o deficiencia severa de magnesio, pacientes con falla renal y/o trasplantados, que presentan el problema de desarrollar un hiperparatiroidismo secundario, durante la cirugía de trasplante hepático, by pass cardiopulmonar o cualquier otro procedimiento que requiera transfusión rápida de sangre, debido a que la hipocalcemia ocurre seguido a la administración de citrato (sangre citratada) o a la infusión de otros fluidos durante la oxigenación extracorpórea o cirugía. En pacientes dializados es necesaria su medición para adecuar el balance.

La brecha aniónica o ***anión gap***, en inglés, es la diferencia entre los cationes y aniones medidos en suero, plasma u orina. La magnitud de esta diferencia (brecha) en el suero es frecuentemente usada en medicina para tratar de identificar la causa de acidosis metabólica.

Los niveles de ***lactato*** están directamente relacionados con la disponibilidad de oxígeno. En condiciones aeróbicas el piruvato se transforma en acetil coenzima A para dirigirse al ciclo de Krebs y oxidarse totalmente a CO_2 y agua. En condiciones anaeróbicas el piruvato se reduce a lactato en una reacción catalizada por la enzima L-lactato deshidrogenasa y de esta forma se regenera el NAD^+ y la glucólisis puede continuar. El lactato es, cuantitativamente, el

sustrato más importante para la síntesis de glucosa. El que se encuentra circulando procede sobre todo del músculo esquelético y, en menor medida, de eritrocitos, médula renal, cerebro y piel.

Condición del paciente: Determinada por el médico tratante.

Muestra:

- Sangre total anticoagulada con heparina de litio balanceada con calcio aplicado por aspersión (Gasometría en sangre arterial y/o venosa, electrolitos, lactato y calcio iónico).
- Suero (Electrolitos y calcio iónico).

En caso la muestra sea colectada sea sangre total para gasometría, debe recogerse en condiciones anaerobias para impedir el intercambio de gases con el aire circundante y debe sellarse el contenedor para asegurar el mantenimiento de la anaerobiosis. En ***ningún caso*** la muestra debe quedar ***sellada por una aguja*** sino por un tapón o mecanismo específico para sellar la muestra, mantener la anaerobiosis y evitar cualquier riesgo biológico potencial.

Puesto que el aire ambiental contiene una pCO_2 prácticamente nula y una pO_2 de alrededor de 150 mmHg, la presencia de aire en la muestra tenderá a reducir la pCO_2 (produciendo un aumento en el pH) y a aumentar o disminuir la pO_2 equilibrando la muestra con el aire del ambiente. Este efecto es mayor cuanto mayor es la superficie de contacto aire/sangre (burbujas pequeñas y múltiples) y se manifiesta sobre todo en la pO_2.

PROCEDIMIENTO:

5.4.1 GASES ARTERIALES

Se recibe la muestra en jeringa especial para gasometría y verificar que esté en condiciones óptimas (***no burbujas***, ***sin aguja*** o ***contacto con el medio externo***) así como contener el nombre debidamente rotulado, la temperatura y el FiO_2 del paciente.

Antes del análisis, es esencial que la muestra se mezcle completamente. Es necesaria una distribución uniforme de glóbulos rojos y plasma antes de la aspiración de la muestra por el equipo de gasometría.

La muestra debe mezclarse por inversión al menos tres veces y rodar entre las palmas al menos cinco veces, si se extraen dentro de los 02 minutos posteriores al muestreo. La jeringa debe homogenizarse suavemente durante un minuto inmediatamente antes del análisis, si es que hay más de cinco minutos transcurridos desde la recolección de muestras.

La transferencia de muestras de sangre entre dispositivos, por ejemplo, de una jeringa a un tubo capilar, no es recomendado. La transferencia

de una muestra entre dispositivos puede introducir contaminación del aire en la muestra de sangre y/o causar un aumento en la concentración final de heparina que puede conducir a interferencia de analitos, como el sodio, calcio ionizado, pH, pCO_2 y pO_2.

El analizador tiene 06 paneles de trabajo:

- AGA Completo
- Electrolitos
- Lactato
- tBili/CO-Ox
- Capilar
- AGA

Los paneles predeterminados han sido configurados para utilizar 150 uL, excepto en tBili/CO-Ox, que utiliza 65 uL. El orden de los paneles es configurado a disposición de los usuarios.

Una vez seleccionado el panel, emergerá la sonda de aspiración en un ángulo de 30º desde su posición de inicio. Presentar la jeringa con la muestra, la cual debe ser insertada lo suficiente en el contenedor para permitir la aspiración, pero no tan lejos como para evitar que haya aspiración de aire. Evitar poner el émbolo de la jeringa en contacto con la sonda de aspiración, para evitar que el volumen de muestra sea mínimo o inadecuado. Se procede a la aspiración de ésta por parte del equipo (previa homogenización de la jeringa).

Se procede a la aspiración de muestra por el equipo (previa homogenización de la jeringa), seleccionando la opción ***AGA COMPLETO*** o solamente ***AGA***, exponiéndose la aguja de aspiración.

El sistema al haber aspirado la muestra, emitirá un mensaje de audio cuando la aspiración esté completa. Retirar la jeringa. Disponer la jeringa como todo material biocontaminado.

El analizador está configurado para requerir la confirmación de "OK", y así la sonda de muestras se retrae. De no presionarse el botón "OK", el analizador tiene un temporizador de 15 segundos, para que la retracción de la sonda sea automática.

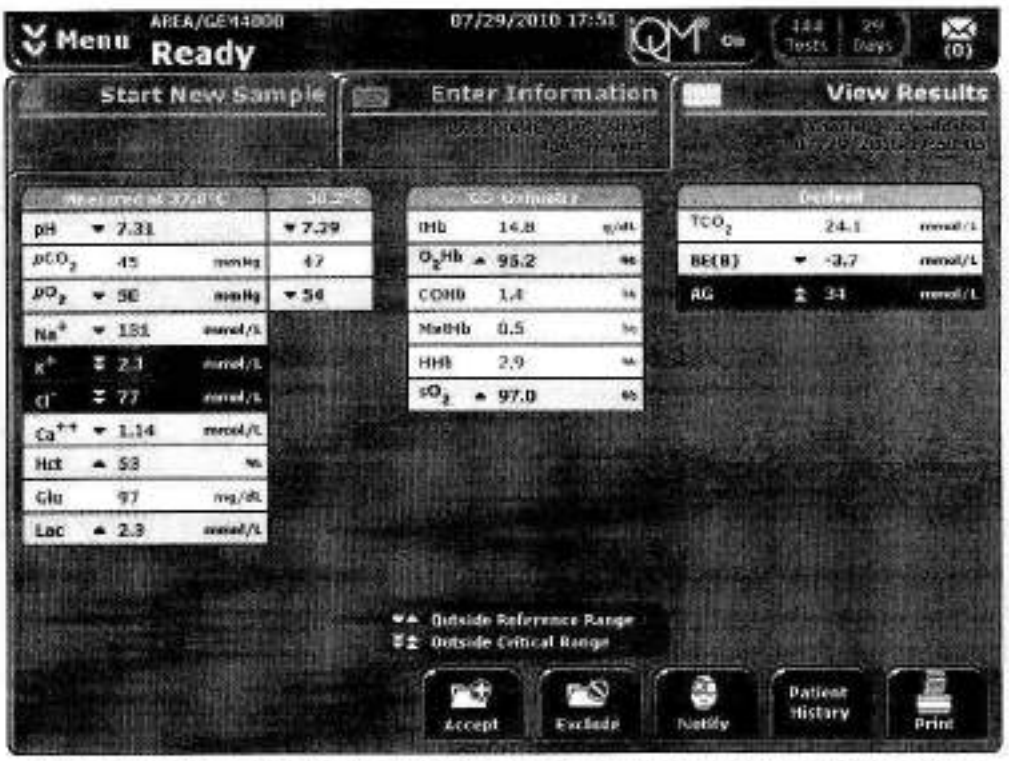
El analizador realizará el análisis mientras se ingresa la información de cada paciente, utilizando el teclado alfanumérico (el teclado se vuelve accesible automáticamente una vez que se presiona el botón "OK" o una vez que termina la cuenta regresiva del temporizador). Se introduce la identificación por el código de barras (leído por scanner o ingresado dígito por dígito), apellidos y nombres del (de la) paciente, el FiO_2 y la T°, luego, de unos segundos se obtiene la lectura impresa y en el panel. Los campos obligatorios son indicados por un asterisco. No se puede acceder a los resultados hasta que todos los campos obligatorios estén todos ingresados

Para ver los resultados de las muestras procesadas, se selecciona la opción "VER RESULTADOS", o en su defecto, pasados 05 segundos de inactividad.

Los resultados se presentan de la siguiente manera:

- Valores medidos.
- Temperatura corregida.
- Valores derivados.

Si se han configurado los rangos de referencia del paciente y los límites de valores críticos, éstos también se verán en pantalla, en fondo de color amarillo o rojo, respectivamente. En texto blanco sobre fondo gris indica que no se ha establecido ningún rango de referencia o límite crítico configurado para ese analito.



El analizador Gem Premier 5000 realiza una verificación de análisis iQM post muestra, para evaluar la presencia de interferentes. De encontrarse algún interferente, se alertará al operador inmediatamente con una pantalla emergente de diálogo en el analizador. El operador deberá reconocer la alerta de diálogo para continuar las funciones del analizador.

Las siguientes excepciones o banderas pueden mostrarse junto con los resultados de la muestra:

Exception Symbol	Exception Symbol Description
▲	Outside Reference Range - High
▼	Outside Reference Range - Low

Exception Flag	Exception Flag Description
incalculable	Result Incalculable
	Absorbance Error
	Sulfhemoglobin Interference Detected
	High Turbidity Detected
	Interference Detected
	Micro Clot Detected
	Temporary Sensor Error
	High Methemoglobin Warning
	Sulfhemoglobin and High Methemoglobin Warning
	Corrected for Sulfhemoglobin

Cuando se presenta el indicador de incalculable para los analitos medidos, indica que los criterios de medición no se cumplieron durante el análisis de la muestra. Si no se proporciona un valor introducido requerido para el cálculo, también se tendrá la bandera incalculable.

Un error de Absorbancia es un indicador de una imprecisión del espectro residual durante el análisis de la muestra.

Se presenta un indicador de turbidez cuando ésta es igual o superior al 5% intralípidos. El 1% intralípidos es aproximadamente 500 mg/dL de triglicéridos.

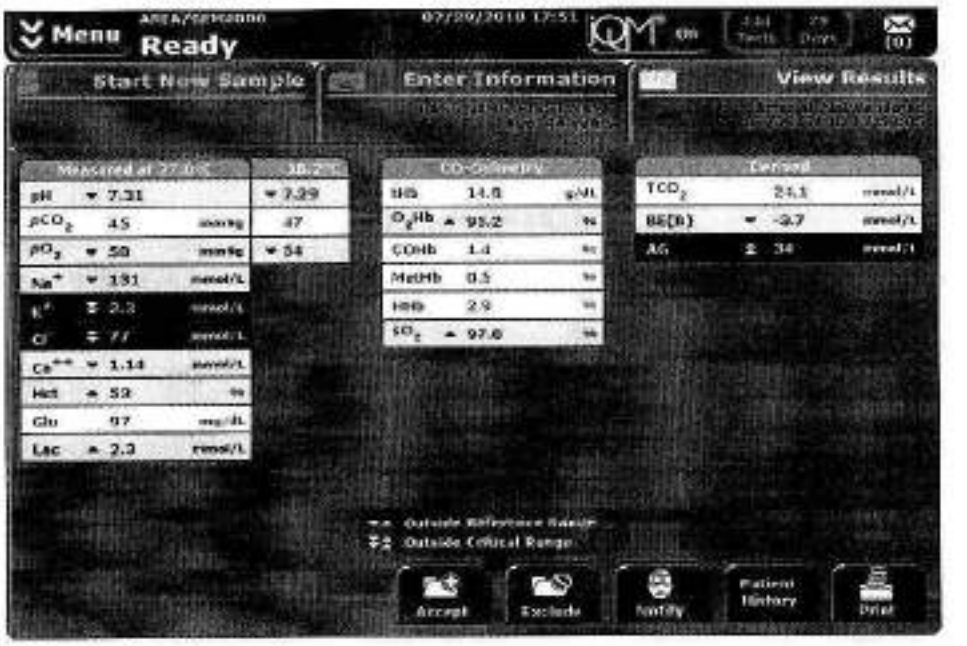
Presionar "ACEPTAR" para liberar los resultados de los pacientes. Si se cuenta con interfaz, el analizador hará host de los resultados procesados. Presionar "EXCLUIR" si no desea transmitir los resultados, manteniéndose éstos sólo en la base de datos del analizador.

El equipo tiene la opción de utilizar la validación del delta check, aceptando automáticamente los resultados, sí y sólo si se cumplen

ciertas condiciones. Por ejemplo, si los resultados contienen valores que exceden los límites críticos, entonces se requerirá la aceptación manual.

Una vez aceptados los resultados, éstos se imprimirán de manera automática en papel térmico compatible con el analizador.

El analizador regresa al menú inicio.



Valores de referencia

- pH 7.35 – 7.45
- pCO_2 36.0 – 46.0 mmHg
- pO_2 85.0 – 108.0 mmHg
- $cHCO_3$ 22.0 – 26.0 mmol/L
- $cTCO_2$ 25.0 – 30.0 mmol/L
- cBase (Ecf) (-) 3.00 – (+) 3.00 mmol/L
- sO_2 95.0 – 100.0 %

Valores críticos para reporte de urgencia

- pH : < 7.25 ó > 7.55
- pCO_2 : < 20.0 ó > 60.0
- pO_2 : < 40.0
- HCO_3 : < 15.0 ó > 40.0
- sO_2 : 75% ó Menos

5.4.2 ELECTROLITOS SÉRICOS

Muestra similar a los gases arteriales, por lo cual se sigue el mismo procedimiento. En muestra sérica debe ser limpida no hemolizada, previa verificación del nombre del paciente.

Se procede a la aspiración de muestra por el equipo, seleccionando la opción ***ELECTROLITOS***, exponiéndose la aguja de aspiración.

El sistema al haber aspirado la muestra, emitirá un mensaje de audio cuando la aspiración esté completa. Retirar el contenedor de la muestra. Disponer el contenedor como todo material biocontaminado.

El procedimiento es tal y cual descrito para la prueba de ***GASES ARTERIALES***.

Intervalo de referencia sérica:

- Na^+ 136 – 146 mmol/L
- K^+ 3.50 – 5.00 mmol/L
- Ca^{+2} 1.15 – 1.33 mmol/L
- Cl^- 98.0 – 106.0 mmol/L

Valores críticos de reporte de urgencia

- Na^+ < 120.0 ó > 160.0 mmol/L
- K^+ < 2.50 ó > 6.50 mmol/L
- Ca^{+2} < 0.75 – 1.60 mmol/L
- Cl^- < 80.0 ó > 115.0 mmol/L

Nota: Cuando se mide gases y electrolitos juntos, aspirar la muestra en la opción ***AGA COMPLETO*** con los procedimientos ya mencionados.

5.4.3 ANIÓN GAP

El analizador de gasometría y medio interno, Gem Premier 5000 utiliza electrodos selectivos de iones que dan una brecha aniónica a través de cálculos matemáticos, considerándose un valor normal como menor de 11.0 mEq/L.

Intervalo de referencia sérica:

- Anión Gap 3.00 – 11.0 mEq/L

Valores críticos de reporte de urgencia

- Anión Gap > 11.0 mEq/L

NOTA: Una proporción de individuos sanos, pueden tener valores fuera del rango referencial.

5.4.4 LACTATO

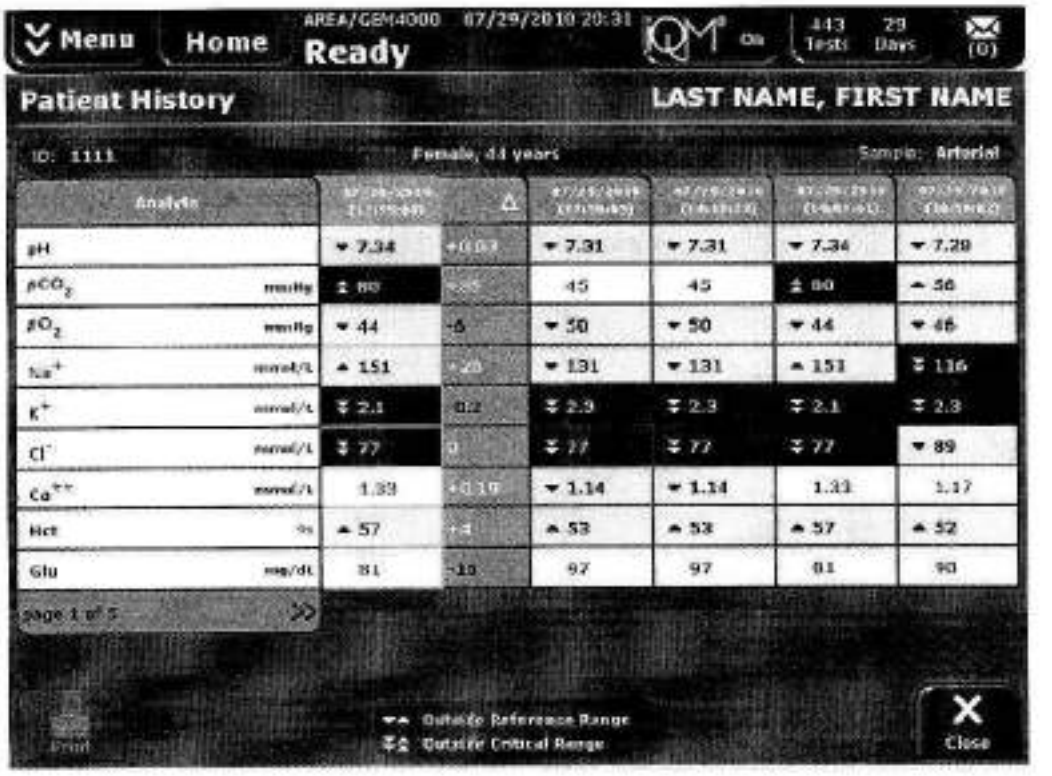
La muestra optima es sangre venosa heparinizada y como segunda opción seria de los gases arteriales, por el cual se sigue el mismo procedimiento de la Opción ***AGA COMPLETO***.

Aspirar la muestra por el equipo, identificar su nombre completo a través del código de barra, se obtiene el resultado impreso y en pantalla.

Intervalo de referencia

- Lactato en plasma arterial es de 0.5 a 1.6 mmol/L
- Lactato en plasma venoso es de 0.5 a 2.2 mmol/L

Este analizador permite evaluar históricos de pacientes, tal y como se muestra en la siguiente imagen:



Generalmente, quitar el cartucho es una tarea que debe realizarse cuando éste está completamente usado y el analizador indica que éste necesita ser reemplazado. Si un cartucho ha alcanzado su vida útil máxima a bordo o capacidad de prueba, la puerta del analizador, se abrirá automáticamente y mostrará un mensaje al operador para retirar el cartucho. De suceder eso, seguir las instrucciones proporcionadas. ***No subutilizar el cartucho***.

5.5 DETERMINACIÓN DE MARCADORES BIOLÓGICOS POR QUIMIOLUMINISCENCIA

5.5.1 GENERALIDADES

Las pruebas realizadas en el Pathfast se basan en el principio del CLEIA por la tecnología del MAGTRATION, donde **CLEIA** significa Inmunoensayo enzimático quimioluminiscente, y **MAGTRATION®** es la tecnología de separación unido/libre (B/F, bound/free) en la que se lavan partículas magnéticas en la punta de la pipeta (Nombre comercial: Precisión System Science).

Composición del cartucho de reacción:

El cartucho de reactivo consta de 16 pocillos. Todos los pocillos excepto el pocillo de la muestra (N° 1) y el pocillo de recuento (N° 10) están cubiertos con un sello de aluminio con códigos de barra en él. Todos los reactivos para la prueba están incluidos en cada pocillo del cartucho de reactivo. Ejemplo – Cartucho de Troponina I:

Pozos	Forma	Ingrediente	Cantidad	Origen
# 02	Líquido	AcMo anticTnI, conjugado con fosfatasa alcalina, Tampón MOPS Azida sódica	50 uL < 0.10%	Intestino de ternero Ratón
# 07	Líquido	Partículas magnéticas revestidas con AcMo anticTnI	50 uL	Ratón
# 13	Líquido	Sustrato CDP-Star® quimioluminiscente	100 uL	
# 11	Líquido	Tampón de dilución de la muestra Tampón Tris Azida sódica	50 uL < 0.10%	
# 03, 04, 05	Líquido	Tampón de lavado Tampón Tris Azida sódica	400 uL < 0.10%	

Donde:

- AcMo = anticuerpo monoclonal.
- Los pocillos N° 1, 6, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 16 son pocillos vacíos.
- CDP-Star® es una marca registrada de Applied Biosystems.

Calibración de los marcadores por el usuario

1. Es necesaria la calibración por el usuario cuando se usa un nuevo lote de reactivos después de la instalación de la curva maestra de calibración en la MC ENTRY CARD.
2. La calibración por el usuario es también necesaria cada 4 semanas después de la primera calibración por el usuario (no es necesaria la TARJETA DE INTRODUCCIÓN DE CM).
3. Los calibradores, CAL-1 y CAL-2, deben usarse ambos ***por duplicado*** de cualquier marcador Por tanto, para la calibración por

el usuario ***son necesarios 4 cartuchos de reactivo*** (2 para CAL-1 y 2 para CAL-2) del respectivo marcador.

4. Realice la calibración de acuerdo con el manual del inserto respectivo del PATHFAST:

   - Reconstituya el vial de CAL-2 con un frasco (1 mL) de diluyente de calibrador. El CAL-1 está listo para usarse. Los calibradores reconstituidos permanecen estables durante 7 días a 2-8°C ó 1 mes a (–20°C).
   - Disponga los cartuchos de reactivo en el bastidor de cartuchos, luego dispense 100 µl de CAL-1 y CAL-2 en los pocillos de muestra para cargarlos en el PATHFAST.
   - Continuar como es el procedimiento de muestras, y al final los resultados de ambos calibradores serán ***ACEPTABLE*** cuando ha calibrado y ***NO ACEPTABLE*** cuando no ha calibrado. Registrándose en la memoria de calibración con su número de lote y la fecha de vencimiento de la calibración a bordo del marcador respectivo.

Control de Calidad por el usuario:

- Consulte el manual del usuario del PATHFAST. Se realiza un ensayo QC después de cada calibración para comprobar las curvas de calibración y conservar los datos de las muestras de QC para el control de calidad en sus dos niveles. Un ensayo de QC es indispensable para asegurar la validez de los resultados con muestras.
- Después de cada calibración con cada nuevo envío de kits de pruebas calibradas previamente, o siempre que el centro desee verificar el rendimiento del sistema, analice dos niveles de material de control de calidad con concentraciones conocidas del analito cuantificado.
- Siguiendo el inserto de control de calidad del proveedor se procede a realizar los controles nivel normal QC1 y Nivel patológico QC2 :
  - Se dispensa 100 uL de QC1 y 100 uL de QC2 al cartucho del marcador respectivo.
  - Continuar como se procesan las muestras.

Recolección de muestra:

- Obtener sangre venosa recogidos en Heparina de litio en general, excepto en citrato de sodio exclusivo para la determinación de Dímero D.
- Como segunda opción recolectar sangre venosa con EDTA tripotásico, adicionalmente en suero para la determinación de HCG.

- Las muestras de sangre entera deben analizarse dentro de los 30 minutos siguientes a la recogida.
- Debe eliminarse restos de fibrina u otros materiales insolubles en la muestra, sino centrifugar para usar el plasma.
- Las muestras de plasma pueden conservarse en refrigeración o congelar a –20°C o menos hasta que se realice la prueba, pero las muestras congeladas no deben congelarse y descongelarse repetidamente.

Ensayo de la muestra:

- Antes de usar, verificar el lote del marcador en uso y su vencimiento a bordo del equipo Pathfast que nos indica que está calibrado y controlado.
- Programar los datos del paciente que incluye si la muestra es sangre entera, es necesario ***introducir el valor del Hematocrito de la muestra en el PATHFAST***.
- Previamente homogenizado, dispensar 100 uL de muestra en el espacio inicial del cartucho de reacción. Añadir un tip, presionar START para comenzar inmediatamente.
- Cuando las muestras se dejan durante más de 5 minutos después de la dispensación en un pocillo de muestras, se obtendrá un resultado menor al analizar la sangre entera debido a la sedimentación de la sangre y se obtendrá un resultado mayor al analizar el plasma debido a la concentración. Como tal, se sugiere resuspender la muestra.

Realice el ensayo de acuerdo con el manual del usuario del Pathfast, obteniendo el resultado en 15 minutos promedio los marcadores de Troponina I, Dímero D, NT-proBNP y βHCG.

5.5.2 MARCADORES CARDÍACOS

5.5.2.1 TROPONINA I

La Troponina I cardíaca (cTnI) es una proteína del músculo cardíaco con un peso molecular de 22.500 dalton. En el corazón, la troponina I (TnI) junto con la troponina T (TnT) y la troponina C (TnC) forma un complejo de troponina que

desempeña un papel fundamental en la transmisión de la señal de calcio intracelular de la interacción actina – miosina. La Troponina I se libera rápidamente a la circulación sanguínea 4 – 6 horas después de la aparición del IAM y permanece elevada durante varios días posteriormente.

Principio del ensayo

- Basado en la mezcla con la muestra de anticuerpo monoclonal anti cTnI marcado con fosfatasa alcalina y partículas magnéticas revestidas con anticuerpo monoclonal anti cTnI.
- La cTnI contenida en la muestra se une a los anticuerpos anti cTnI formando un inmunocomplejo con el anticuerpo marcado con enzimas y las partículas magnéticas revestidas con anticuerpos. Después de retirar el anticuerpo marcado con enzima que no se ha unido, se añade un sustrato quimioluminiscente al inmunocomplejo. Después de una corta incubación, se detecta la luminiscencia generada por la reacción enzimática.
- La intensidad de la luminiscencia medida está en relación con la concentración de cTnI en la muestra, que se calcula mediante una curva estándar.

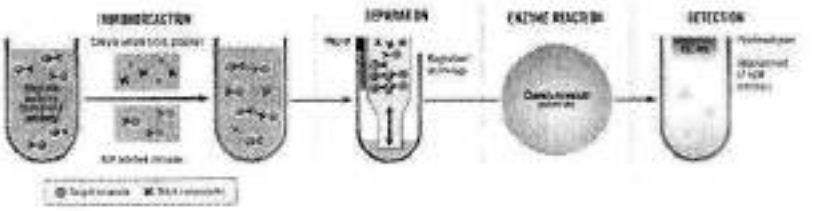
Muestra: Sangre total heparinizada, con EDTA.

Valores de referencia: Menor a 0.02 ug/L.

Rango de medición: 0.02 – 50.0 ug/dL.

Las muestras con resultados > 50.0 ng/mL deben diluirse con diluyente de muestras (Producto # PF02D) y volver a repetir la prueba si se desea un resultado exacto y veraz.

Calibración y QC de Troponina I, según el manual del usuario descrito anteriormente.



5.5.2.2 NTpro-BNP (PÉPTIDO NATRIURÉTICO DE TIPO B)

El péptido natriurético de tipo B (BNP) es un pequeño péptido (de aminoácidos) secretado por los miocitos cardiacos para potenciar la regulación de la presión arterial y el balance de líquidos. Su precursor proBNP se sintetiza en los ventrículos cardiacos izquierdos como péptido de una sola cadena de 108

aminoácidos. En este proceso, el proBNP se escinde en dos fragmentos que son secretados al torrente sanguíneo como el BNP activo de 32 aminoácidos (77-108) y el fragmento N-terminal de 76 (1-76) aminoácidos conocido como NT-proBNP. La determinación de NT-proBNP ayuda a identificar a las personas con disfunción del ventrículo izquierdo. Los cambios en la concentración de NT-proBNP pueden usarse para evaluar el éxito del tratamiento en pacientes con disfunción del ventrículo izquierdo.

El resultado obtenido con el ensayo se usa para ayudar en el diagnóstico y la valoración de la intensidad de la insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) y para la estratificación del riesgo en pacientes con síndromes coronarios agudos (SCA).

Principio del ensayo

- Basado en la mezcla con la muestra anticuerpo policlonal anti-NTproBNP marcado con fosfatasa alcalina y partículas magnéticas revestidas con antic. policlonal anti-NTproBNP.
- El NT-proBNP contenido en la muestra se une a los anticuerpos anti NT-proBNP formando un inmunocomplejo con antic. marcado con enzima y partículas magnéticas revestidas con anticuerpos. Después de retirar el anticuerpo marcado con enzima que no se ha unido, se añade un sustrato quimioluminiscente al inmunocomplejo. Después de una corta incubación, se detecta la luminiscencia generada por la reacción enzimática.
- La intensidad de la luminiscencia medida está en relación con la concentración de NT-proBNP en la muestra, que se calcula mediante una curva estándar.

Valores de referencia:

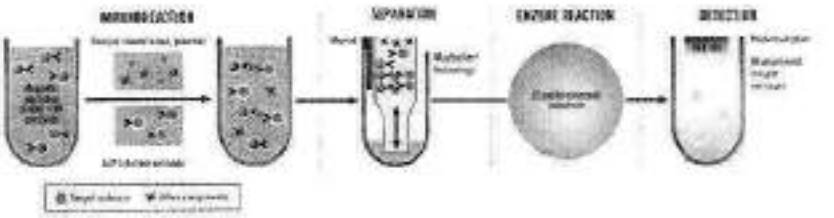
- Pacientes menores de 75 años: Hasta 125 pg /mL
- Pacientes mayores de 75 años: Hasta 450 pg/mL

Muestra: Sangre total heparinizada, con EDTA.

Rango de medición: 15 pg/mL a 30,000 pg/mL

Las muestras con resultados mayores de 30000 pg/mL deben diluirse con solución salina y reprocesarse si se desea un resultado cuantitativo o, si no es así, pueden informarse como > 30000 pg/mL.

Calibración y QC de NT-proBNP, según el manual del usuario descrito anteriormente.



5.5.2.3 DÍMERO D

El dímero D es un marcador específico de la degradación del coágulo de fibrina y un marcador indirecto de la formación de coágulos. Se liberan fragmentos del producto de degradación de la fibrina (XDP) con dímero D cuando la fibrina con enlaces cruzados es degradada por la plasmina. El dímero D está elevado en varias situaciones clínicas, como la trombosis venosa profunda (TVP), el embolismo pulmonar (EP) y la coagulación intravascular diseminada (CID).

Es posible descartar la presencia de TVP o EP cuando la concentración de dímero D está por debajo del valor de corte establecido por estudios clínicos rigurosos. La medición del dímero D puede usarse también como ayuda en la detección de la CID.

Principio del ensayo

- Basado en la mezcla con la muestra anticuerpo monoclonal anti-dímero D marcado con fosfatasa alcalina y partículas magnéticas revestidas con anticuerpos monoclonales anti-dímero D.
- El dímero D contenido en la muestra se une a los anticuerpos anti dímero D formando un inmunocomplejo con anticuerpo marcado con enzima y partículas magnéticas revestidas con anticuerpos. Después de retirar el anticuerpo marcado con enzima que no se ha unido, se añade un sustrato quimioluminiscente al inmunocomplejo. Después de una corta incubación, se detecta luminiscencia generada por la reacción enzimática.
- La intensidad de la luminiscencia medida está en relación con la concentración de dímero D en la muestra, que se calcula mediante una curva estándar.

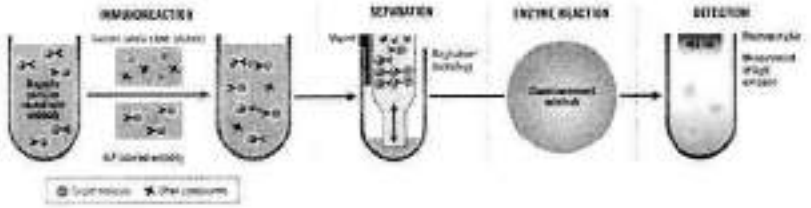
Muestra: Sangre total citratada.

Valores de Referencia: 0.063 a 0.701 ug/ml FEU

Rango de medición: 0,005 – 5.0 µg/mL FEU

Las muestras con resultados > 5.0 ng/mL FEU deben diluirse con diluyente de muestras (Producto # PF03D) y volverse a estudiar si se desea un resultado exacto y veraz.

Calibración y QC de Dimero D, según el manual del usuario descrito anteriormente.



5.5.2.4 HGC –SUB UNIDAD BETA

HCG (gonadotrofina coriónica) es una hormona producida en la placenta (secretado por el trofoblasto en cantidades que se incrementan desde la implantación del óvulo fecundado en el endometrio uterino) y puede ser detectada (sub unidad beta) en sangre materna luego de unos días de la gestación.

PATHFAST HCG-beta se utiliza como ayuda en el diagnóstico y pronóstico del embarazo en atención de urgencias médicas y pre quirúrgico.

Principio del ensayo

- Se basa en el inmunoensayo de quimioluminiscencia (CLEIA) y en la metodología MAGTRATION. La muestra se mezcla con el anticuerpo monoclonal anti HCG marcado con fosfatasa alcalina, y con partículas magnéticas revestidas con anticuerpo monoclonal anti HCG
- La HCG contenida en la muestra se une a los anticuerpos anti HCG, formando un inmunocomplejo con el anticuerpo marcado, uniéndose a las enzimas y a las partículas magnéticas revestidas con anticuerpos. Después de retirar en anticuerpo marcado con enzimas no unidas se añade un sustrato quimioluminiscente, tras una incubación detectando la luminiscencia generada es medida proporcionalmente a la concentración de HCG beta de la muestra.
- La intensidad de la luminiscencia está relacionada con la concentración de HCG beta de la muestra, la cual se calcula mediante una curva estándar.

Muestra:

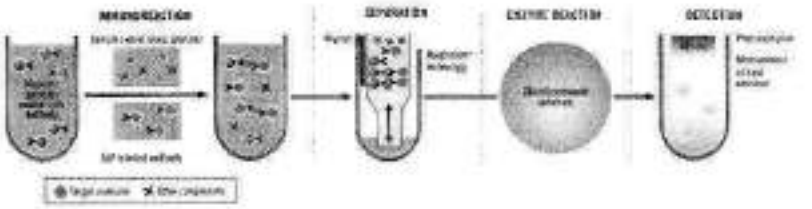
- Sangre total heparinizada, con EDTA, suero.

Valores de referencia: < 25 mUI/ml

Rango de medición: 1.0 a 500.0 mUI/ml

Las muestras con resultados mayores de 500 mUI/ml deben diluirse con solución salina al factor de dilución más apropiado y el resultado multiplicar por dicho factor.

Calibración y QC de HCG, según el manual del usuario descrito anteriormente.



Protocolo de trabajo:

- Se recibe la muestra de suero, verificar información del rótulo manual con la del código de barras.
- Verificar que la prueba solicitada corresponda a βHCG cuantitativa.
- Sacar un sachet de refrigeración y que coja la temperatura ambiente, antes de abrirlo. Sacar la placa de la bolsa sellada y usarla en el menor tiempo posible.
- Transferir 03 gotas de suero en el pocillo de muestra (S) del dispositivo de prueba y, a continuación iniciar el temporizador.
- Proceder con la corrida de βHCG cualitativa y leer a los 05 minutos. Es importante que el fondo del campo de corrida sea claro, antes de leer el resultado.
- Si el resultado de la prueba cualitativa, es NEGATIVO, entonces, proceder a reportar la prueba cuantitativa como < 0.010 mUI/mL. Un resultado NEGATIVO se interpreta cuando una línea roja aparece en la región de control, únicamente.
- Si el resultado de la prueba cualitativa, es POSITIVO, entonces, proceder con la prueba cuantitativa realizando una dilución, según la tonalidad que se obtenga en la línea de la región de prueba. Para considerar un resultado como POSITIVO, se deben obtener dos líneas, una en la región de prueba y otra en la región de control.
- Las diluciones sugeridas son: 1/20, 1/40, 1/50, tomando en cuenta que, la linealidad del instrumento PathFast es hasta 500 mUI/mL para la prueba de βHCG.

- No olvidar que, el resultado emitido por el instrumento, debe ser multiplicado por el factor de dilución con el que se ha trabajado la muestra.

5.6 DETERMINACIÓN DE ANALITOS BIOQUÍMICOS POR QUÍMICA SECA

El servicio de análisis bioquímicos de urgencia y emergencias de nuestro hospital se caracteriza por un procesamiento manual y automatizado, es decir un procedimiento por vía liquida y vía seca llamado también química seca, siendo este último el que se utiliza en forma rutinaria y solo cuando el equipo de química seca este inoperativo o en mantenimiento se realizan las pruebas por química liquida o back up.

5.6.1 METODO DE QUIMICA SECA

- **Fundamento:**

  Tipo de ensayo colorimétrico - cinético, inmunoserológico y de dos puntos.

  El analito estudiado (o precursores de éste u otro compuesto presente en la reacción inicial) es sometido a una reacción química formándose productos de punto final, cinéticos, dos puntos que son leídas y cuantificadas por reflectancia para dar el valor del analito estudiado.

- **Muestras:**

  - Suero, plasma con heparina y/o con EDTA conservado a temperatura ambiente dentro de una hora y refrigerada hasta 24 horas y congelada durante 30 días.
  - Otros: Orina de 24 horas y de emisión espontánea, LCR u otros liquidos y fluidos corporales según el analito solicitado.

- **Reactivos y materiales**

  - **Slide:** Compuesta de 5 capas superpuestas en un soporte de poliéster, siendo la primera de filtración, la segunda de dispersión de la muestra, la tercera es la zona de reacción donde está incorporado el reactivo, las enzimas y/o los precursores cromogénicos. El resto de capas sirven de soporte y protección.

- **Kit de calibración:** Para la calibración de los reactivos se cuentan con diferentes kits de calibración (kit 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 25). Cada kit de calibración calibra un grupo determinado de analitos y los pueden contener desde 3 hasta 4 niveles dependiendo del analito a calibrar. Todos los kits mencionados se conservan congelados con excepción del kit 5 y kit 10 que se conservan refrigerados. Para los calibradores congelados (con excepción del kit 7), cada nivel consta de 1 juego de "2 frascos" donde uno de ellos será el reactivo liofilizado y el otro el diluyente, es decir, en un kit de 3 niveles tendremos 6 frascos (1 juego por cada nivel). Los calibradores kit 5, kit 7 y kit 10 se encuentran ya diluidos en un frasco único por cada nivel.

- **Procedimiento de Calibración:** Es importante previamente revisar la Fecha de Vencimiento del kit de calibración y el número de lote del producto. Una vez seleccionado el kit adecuado, se separa de la congeladora y se deja atemperar por 40 minutos.

  Para los calibradores que necesitan ser reconstituídos, utilizar adecuadamente con el par del nivel correspondiente. La reconstitución se realiza agregando 3 mL de diluyente en el liofilizado. Posteriormente se espera 25 minutos sin mover. Pasado este tiempo, se realizan movimientos suaves de resuspensión en 8 evitando la formación de burbujas.

  Inmediatamente después se procede a alicuotar cada nivel (un volumen mínimo de 300 uL aprox. (dependiendo de la cantidad de analitos que se calibre) en una copa portamuestra y realizar la programación de calibración en el equipo.

  Conservar en congelación hasta 30 días máximo, por la falta de apoyo logistico, siempre y cuando se conserve adecuadamente, de lo contrario desechar y preparar nuevo calibrador más aún si existiera algún error sistemático o aleatorio. Lo ideal es reconstituir el calibrador para una sola vez, pero nuestra realidad opina lo contrario. Máximo conservar 30 días.

  Procedimiento de calibración en general

  - Previamente ingresar el(los) analito(s) con su lote respectivo al Vitros 350).
  - Ingresar a **Programar calibración**. Escriba un nombre del grupo deseado (ej. Letra "B") presione INTRO.
  - **Añadir el grupo** – YES, Enter.
  - Seleccione la(s) prueba(s) a calibrar.
  - Toque mostrar **números lote KIT**.

- Seleccione el número de lote y luego toque INTRO.
- Mostrar **Toque Números lote KIT**.
- Verificar que los lotes de la pantalla coincidan con el lote del frasco calibrador preparado con 3 ó 4 niveles.
- Toque Regresar para grabar. Toque **cargar grupo**. Toque **grupo está cargado**.
- Colocar la bandeja con los calibradores alicuotados en el sector que indica la pantalla DE LA BANDEJA QUE SE ACTIVA (luz verde) por defecto siempre es en bandeja 1, regresar.
- Presionar **ON**, esperar como en el caso de las muestras, el tiempo de 5 – 7 minutos y observar en pantalla **Calibración completa** lo cual es sinónimo de terminado y aceptado: OK. Confirmar con Inventario de slide. Fin del procedimiento.
- Realizar finalmente copia de seguridad o Back up. Ir a **OPCIONES** y digitar la clave: 68370668.
- Tocar copia de seguridad. Introducir el disquete y presionar copia de seguridad.
- **Para cambiar el # de lote Kit de los calibradores nuevos:**
  - Ir a **opciones**, entrar código de acceso 68370668.
  - Ir a **calibrador Lote selección #**
  - Seleccionar el N° de lote Kit que corresponde el analito (ejm.kit 1,2, 0, 3 etc.)
  - Abrir y elegir # de lote que corresponde al calibrador nuevo (LAS 4 PRIMERAS #)
  - Regresar y a cargar el cartucho nuevo, luego calibrar.
- **Para preferir o Elegir el lote calibrado del analito a usar**:
  - Ir a **opciones**, entrar código de acceso 68370668.
  - Seleccionar parámetros de calibración, luego presione restaurar parámetros de calibración.
  - Seleccionar el analito a restaurar (ir con F2 inventario de slide y ver el lote a restaurar) regresar y, subir o bajar hasta seleccionar el lote a usar.
  - Click en restaurar calibración, luego presione regresar.
- **Para actualizar disquete de calibración:**
  - Ir a **opciones**, entrar código de acceso 68370668.

- **Cargar disco de calibración,** aparece la versión del DRV actual. Abrir el próximo (disquete y la tabla de lotes calibrados para corroborar lotes calibrados).
- Insertar Disquete y presionar INICIO. Presionar CONTINUAR y darle aceptar (**Yes**).
- Finalmente esperar la transferencia de datos que dura aproximadamente 2 – 3 minutos.
- **Regresar** y final. Retirar disquete del equipo y guardar con fecha de actualizado.

- **Los calibradores consta de 09 paquetes o Kit:**
  - Kit 1 calibra: BUN/Urea, Ca, Glucosa, Creatinina, Magnesio, fósforo, Ácido úrico.
  - Kit 2 calibra: Colesterol total, triglicéridos.
  - Kit 3 calibra: Fosfatasa Alcalina, TGP Amilasa, TGO, CK, GGT, LDH, Lipasa.
  - Kit 4 Calibra: Albumina, Bu-Bc, Bil.Total, Proteínas Totales.
  - Kit 5 calibra: Proteína de líquido Cefalorraquídeo (LCR).
  - Kit 6 calibra: CKMB.
  - Kit 7 calibra: PCR.
  - Kit 10 calibra: Proteína en orina.
  - Kit 25 calibra: Colesterol HDL.
- **Control de calidad interno de Vitros 350 (BIO I, BIO II, ISO I, ISOII, PCRI, PCR II, UPRO I, UPRO II, PROT I, PROT II): La** preparación de los controles se inicia con el descongelamiento de los controles y sus respectivos diluyentes. Se agrega 3 ml de cada diluyente a los liofilizados. Reposar 20 minutos al cabo se mezcla por rotación en "ocho" cada 5 minutos hasta observar su homogenización total. Se alícuota con 250 ul por 12 copitas aprox. Se sella con parafilm y se conserva en gradillas plásticas a (-21°C).
- **Los controles para el uso diario.** Se retira del congelador cada control hacia el refrigerador primero por 20 minutos luego, a Temperatura ambiente. por 20 minutos, se mezcla por inversión lentamente para su licuación total. Se procede a programar en el Vitros 350 como BIO I, BIO II, ISO I, ISO II, PCR I, PCR II, UPRO I, UPRO II, PROT I, PROT II; luego proceder como el procedimiento de las muestras.
  - **BIO I y BIO II:** Control normal y patológico, respectivamente, para glucosa, urea, creatinina, ácido úrico, colesterol total, HDL

colesterol, triglicéridos, proteínas totales, albúmina, bilirrubina total, bilirrubina no conjugada (Bu), TGP, TGO, fosfatasa alcalina, GGT, amilasa, lipasa, calcio. fósforo, magnesio.

- **ISO I y II:** Control normal y patológico para CK total y CKMB.
- **PCR I y II:** Control normal y patológico para Proteina C Reactiva.
- **UPRO I y II:** Control normal y patológico para proteínas urinarias.
- **PROT I y II:** Control normal y patológico para proteínas en líquido cerebro espinal.

- **Procedimiento de Mantenimiento diario:**

i. **Prueba de la almohadilla:** Diagnostico → Pruebas actuación → Incubador → Reflectancia/almohadilla → Inicio → Esperar 5 minutos (el ***rango*** debe ser < a ***0.03***, siendo ***ACEPTABLE***); en caso contrario ir a Mostrar → Rango → Limpiar Lentes sucios, cerrar y nuevamente ir a la prueba para confirmar su rango < a 0.03.

ii. **Prueba de Interfaz:** Diagnostico → Protocolo → Compu Lab Analizador → Captura → **ON** (Interfaz) **OFF** (bloqueado) → corregir presionando ON, observar con F3 si está solucionado la captura en ON.

iii. **Prueba de F3:** Presionar F3, observar en pantalla si está ocupado por muestras en la bandeja respectiva y demuestra que está leyendo y procesándose.

iv. **Prueba de F4:** Para observar el volumen del inmunolavado de PCR a bordo.

v. **Chequeo de pendientes:** Programar Muestras → Opciones → Mostrar ID muestras → Mostrar por alfa numérico → Borrar datos mostrados → YES (si es posible de lo contrario evitar porque elimina toda la página) Para no interferir en programaciones posteriores.

vi. **Recuperación de datos del día:** Revisar resultados → Editar o verificar resultados → Fechas De Hoy → HOY. Presionar botón ENTER. REVISAR PROXIMA MUESTRA. Para leer otros pacientes y revisar próximo grupo para ver otra página del mismo paciente.

vii. **Recuperar resultados por fechas:** Revisar resultados → editar resultados:

- Fecha de Inicio: MES → DÍA → AÑO, presionar botón ENTER.

- Fecha Final: MES → DIA → AÑO, presionar botón ENTER.
- Hora de Inicio: HORA FINAL → HORA INICIO.
- Doble Enter (mover o subir con Revisar próxima muestra).

viii. **Cambio de Immunowash.** Mantenimiento periódico → Mantenimiento diario → Fluido → Fluido inmuno limpieza (cambiar punta y liquido especial para PCR), actualizar fecha. Presionar YES para regresar. Cambiar cada 4 días.

ix. **Búsqueda de información oficial de Procesamiento de Analitos Vitros 350 en GOOGLE:** Ir a Google Chrome → Ortho clínical → Documentos Técnicos → Ortho Care → Documentos técnicos → Instrucciones de uso → Seleccionar País, idioma y producto (Vitros microslide) → ENVIAR. Seleccionar analito, abrir e imprimir o guardar en PDF.

- **Procedimiento para muestras en general:**

1. **Programación de la muestra:** Como cuenta el servicio de un sistema de interfaz entre Vitros y el LIS (SIGLA) de laboratorio, hay dos maneras de programación:

   La primera es manual: En la ventana principal colocar los iniciales del operador y elegir una bandeja de las cuatro que existen, luego indicar la posición en dicha bandeja colocando el # de orden de la solicitud médica, el apellido y nombre del paciente. Luego elegir las pruebas solicitadas en forma táctil, terminando con presionar la ventana de **Entrar Programa**, colocando el tubo primario en la posición opuesta al código de barra o en los micros cubetas en la posición programada.

   La segunda opción es automática, es decir utilizando el código de barra: colocar el tubo primario en la posición derecha para ser leídas el código por el lector de Vitros que esta interiormente.

   Existe una **tercera opción mixta**, digitar el número del código de barra e incluir el # de solicitud, el nombre del paciente, las pruebas solicitadas, finalmente presionar **Entrar Programa.**

2. **Procesamiento de la muestra:** Para dar inicio a ambas programaciones presionar el botón ON del Vitros 350.

   El equipo Vitros utiliza de 05 uL a 12 uL por prueba, dependiendo del analito. La Incubación y reacción se da por 5 – 7 minutos a 37°C. La lectura se da a una determinada longitud de onda que varía en función al analito estudiado, finalizando la reacción de punto final, dos puntos y cinéticas que serán leídas por reflectancia y visualizadas en el monitor del equipo o se trasmite por Interfase al monitor del LIS SIGLA con la programación segunda y tercera.

Los valores o resultados se obtienen en mg/dL, U/L y g/dL.

5.6.2 GLUCOSA

Descripción:

La ***glucosa*** es un monosacárido que se forma a partir de la digestión de los hidratos de carbono y la conversión de glucógeno en el hígado. Es la fuente primaria de energía celular, se utiliza para supervisar el tratamiento y el diagnostico precoz de las personas diabéticas y en paciente con deshidratación, coma, hipoglucemia, insulinoma, acidosis y cetoacidosis.

Su dosaje a través del laboratorio del Departamento de Patología Clínica del Hospital de Emergencias José Casimiro Ulloa es por las siguientes formas:

- Opción por Química Seca: Suero, orina, LCR y otros líquidos biológicos.
- Opción por electroquímica rápida o presuntiva: Sangre capilar (Hemoglucotest).
- ISE Directo, a través de electrodo: Este método se basa en medir la diferencia de potencial causada por el contacto del analito con el ión en cuestión, respecto de la diferencia de potencial en un electrodo de referencia.
- Tolerancia a la glucosa, proceso excepcional por no ser un marcador de urgencia o emergencia médica.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de glucosa:

El método de química seca VITROS GLU se realiza utilizando los slides VITROS GLU y el Kit de Calibrador 1 de VITROS de Bioquímica en los Analizadores VITROS 350.

El slide VITROS GLU es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. La oxidación de la glucosa contenida en la muestra está catalizada por la glucosa oxidasa para formar peróxido de hidrógeno y gluconato. Esta reacción va seguida de un acoplamiento oxidativo catalizado por la peroxidasa en presencia de precursores colorantes para producir un pigmento. La intensidad del pigmento se mide por la luz reflejada. Ésta es una reacción Trinder. La bioquímica de los slides de glucosa ha sido descrita por Curme, y col.

Secuencia de la reacción:

β-D-glucosa + O_2 + H_2O → (glucosa oxidasa) → Ácido D-glucónico + H_2O_2

$2H_2O_2$ + 4-aminoantipirina + 1,7-dihidroxinaftaleno (peroxidasa) → Pigmento rojo

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Colorimétrico. Punto final
- **Sistema VITROS** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350
- **Tiempo aproximado de incubación:** 5 minutos
- **Temperatura** : 37°C
- **Longitud de onda:** 540 nm
- **Muestras** : Suero, plasma con EDTA, heparina, fluoruro, LCR, otros líquidos biológicos.
- **Vol. de Muestra** : 10 µL
- **Linealidad** : 20 – 625 mg/dL
- **Valor referencial** : 74 – 106 mg/dL
- **Calibración** : Kit 01 calibración
- **Control de calidad:** CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

Tolerancia a la glucosa por vía oral

- **Condición del paciente**:
  - Ayuno entre10 a 12 horas.
  - El paciente debe estar sentado y no se permitirá que fume, beba alcohol o bebidas azucaradas, ni consuma alimentos durante la duración de la prueba.
  - También es necesario determinar con certeza que no reciba ninguna droga que interfiera con el metabolismo de los hidratos de carbono o con los métodos de laboratorio que determinan glucosa.

Drogas que disminuyen la tolerancia a la glucosa:

- **Diuréticos:** Clortalidona, Clonidina, Diazóxido, Furosemida, Metalazona, Tiazidas.
- **Hormonas:** ACTH, Glucagon, Glucocorticoides, Anticonceptivos orales, Somatotrofina, Tiroxina.
- **Agentes pscioactivos:** Clorprotixeno, Haloperidol, Carbonato de litio, Fenotiazinas, Antidepresivos triciclicos.
- **Catecolaminas y agentes neurológicamente activos:** Epinefrina, Isoproterenol, Levodopa, Norepinefrina.
- **Otros:** Fenitoina, Indometacina, Acido nicotinico.

Cantidad necesaria a administrar de glucosa anhidra al paciente por vía oral:

- Adultos : 75 g
- Gestantes : 100 g
- Niños : 1.75 g por Kg de peso corporal.

Muestras: Suero, plasma con EDTA, heparina y fluoruro de sodio.

Procesamiento:

- Realizar el dosaje de glucosa basal en ayunas, previo a la ingesta de glucosa anhidra. El valor de glucosa, debe ser menor de 126 mg/dL, para proceder con el resto de la prueba.
- Ingesta de la glucosa: Se disolverá la glucosa anhidra en no más de 250 ml de agua tibia, (se puede agregar el jugo de 02 limones para saborizar esta solución). Esta solución debe ser bebida en el transcurso de 05 minutos.
- Se tomarán muestras de sangre, teniendo en cuenta la ingesta de la glucosa como referencia en el tiempo: Basal, 30, 60 ,90 y 120 minutos después.
- Se procesa la muestra basal, 30 ,60 ,90 y 120 minutos después de la basal siguiendo el procedimiento de glucosa por química seca o liquida. Obteniendo los resultados de cada proceso en mg/dL.

Intervalo de referencia de la tolerancia de glucosa:

- **Basal** : 70 a 100 mg/dL
- **30 minutos** : Menor a 200 mg/dL
- **60 minutos** : Menor a 160 mg/dL
- **90 minutos** : Menor a 140 mg/dL
- **120 minutos** : Menor a 120 mg/dL

5.6.3 UREA Y NITRÓGENO UREICO

Descripción:

La "Uremia" es un término utilizado para describir las concentraciones de la ***urea*** en la sangre periférica. El ***BUN*** (nitrógeno ureico), medido en plasma o suero, es la porción de nitrógeno de urea, formada en el hígado a través de una enzima. Niveles elevados de nitrógeno ureico en la sangre se llama "azoemia".

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de urea y nitrógeno ureico:

El método de química seca VITROS BUN/UREA se realiza utilizando los slide VITROS BUN/UREA y el Kit de Calibrador 1 VITROS de Bioquímica en los Analizadores VITROS 350.

El slide VITROS BUN/UREA es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster. En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. Seguidamente el agua y los componentes no proteicos se desplazan a la capa reactiva subyacente donde la reacción de la ureasa genera amoníaco. La membrana semipermeable sólo permite el paso del amoníaco a la capa de pigmentación donde reacciona con el indicador para dar lugar a un pigmento. Se determina la densidad de reflexión del colorante que es proporcional a la concentración de urea en la muestra.

Vitros 350, reporta los valores de control de calidad en forma de BUN y de los pacientes en forma de UREA.

Secuencia de la reacción:

$$H_2NCONH_2 + H_2O \rightarrow (\text{ureasa}) \rightarrow 2NH_3 + CO_2$$

$$NH_3 + \text{indicador de amoníaco} \rightarrow \text{pigmento}$$

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Colorimétrico
- **Sistema VITROS** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350
- **Tiempo aproximado de incubación:** 5 minutos
- **Temperatura** : 37°C
- **Longitud de onda** : 670 nm
- **Muestra** : Suero, orina 24 horas y orina simple
- **Volumen de muestra** : 5,5 µL
- **Linealidad BUN** : 2.0 – 120 mg/dL
- **Linealidad UREA** : 4,28 – 257 mg/dL
- **Valor referencial UREA:** 15 – 42.8 mg/dL
- **Valor referencial BUN** : 7.0 – 20.0 mg/dL
- **Calibrador** : Kit 01
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

Procedimiento para el cálculo y reporte de Urea / BUN en orina de 24 horas:

- Recolectar orina de 24 horas como se ha protocolizado en el Manual de Pre analíticos.

- Se mide la urea en orina, por química seca obteniendo una urea en orina stat (mg/dL). Luego se reduce a Nitrógeno en orina dividiendo entre 2.14. Finalmente, empleando la diuresis en mL. Y a través de una regla simple transformamos en gramos para ser reportado.
- Valores referenciales de nitrógeno ureico en orina de 24 horas: 12 a 20 g/24 horas. Se ha elaborado una tabla en Excel para reemplazar datos y obtener los resultados rápidos y precisos.

5.6.4 CREATININA

Descripción:

La ***creatinina*** se produce al final de metabolismo anaeróbico (productores de fosfato de creatina en el metabolismo del músculo esquelético). Debido a que se excreta en forma continua y fácil por el sistema renal, su aumento de los niveles indica una desaceleración de la tasa de filtración glomerular. Por lo que la creatinina es un indicador muy específico de la función renal.

Condición pre analítica del paciente:

- Ayuno de 8 horas (ideal en pacientes estables, no así en casos de emergencia).
- Evitar el exceso de ejercicio durante 8 horas antes de la prueba así como una excesiva ingesta de carne roja durante 24 horas antes de la prueba.

Muestra: Suero, plasma heparinizado, orina de 24 horas, orina simple.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de creatinina:

El método de química seca VITROS CREA se realiza utilizando los slides VITROS CREA y VITROS Chemistry Products Calibrator Kit 01 en VITROS Chemistry Systems.

El slide VITROS CREA es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. La creatinina se difunde a la capa reactiva, donde es hidrolizada a creatina. La creatina amidinohidrolasa convierte la creatina en sarcosina y urea. En presencia de sarcosina oxidasa, la sarcosina es oxidada a glicina, formaldehído y peróxido de hidrógeno. La reacción final implica la oxidación catalizada por peroxidasa de un leucoderivado para producir un producto coloreado.

Tras la adición de la muestra se incuba el slide. Durante la fase inicial de la reacción, la creatina endógena presente en la muestra es oxidada. El cambio resultante en la densidad de reflexión se mide en 2 momentos

diferentes. La diferencia de la densidad de reflexión es proporcional a la concentración de creatinina presente en la muestra.

Secuencia de la reacción:

creatinina + H_2O → (creatinina amidohidrolasa) → creatina

creatina + H_2O → (creatina amidinohidrolasa) → sarcosina + urea

sarcosina + O_2 + H_2O → (sarcosinaoxidasa) → glicina + formaldehido + H_2O_2

H_2O_2 + leucoderivado → (peroxidasa) → pigmento + $2H_2O$

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Frecuencia a dos puntos.
- **Sistema VITROS** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250/350
- **Tiempo aproximado de incubación** : 5 minutos.
- **Temperatura** : 37 °C
- **Longitud de onda** : 670 nm
- **Volumen de Muestra** : 6 µL
- **Linealidad en sangre** : 0.01 – 15.0 mg/dL
- **Linealidad orina diluida** : 1.0 - 346.5 mg/dL
- **Valor referencial sangre** : 0.6 – 1.5 mg/dL
- **Valor referencial orina diluida** : 800 - 2800 mg/24h
- **Calibración** : Kit 01.
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial

Depuración de creatinina en orina de 24 horas

Condición del paciente:

- Instruir al paciente en la recolección adecuada de la orina de 24 horas. Se sugiere ayuno de 12 horas. Se tendrá un registro de la talla y peso reciente del paciente.

Muestra:

- Suero y orina de recolección de 24 horas. La orina será recolectada en un recipiente limpio y con capacidad para 3 litros por un período de 24 horas. La muestra de sangre será tomada al final de la recolección de la orina.
- **Sustancias de interferencia conocida:** Las mismas que para la creatinina en suero u orina.

Procesamiento:

- Realizar según metodología empleada para creatinina en suero y creatinina en orina solamente por metodología de química seca que es más confiable en cuanto a su medición.
- Colocamos la orina centrifugada directa en el Vitros 350, en la programación de creatinina de orina y obteniendo un valor de creatinina en mg/dL diluida 1/21 (multiplicada por el factor 21).
- Una vez obtenidos los valores previos, incorporar en la tabla de Excel creada para el cálculo automático.

Intervalo de referencia:

- Hombres: 95 a 140 ml/min. / Mujeres: 90 a 130 ml/min.

Calculo para la Depuración de Creatinina Endógena (D.C.E.) por química seca

CALCULO DE DEPURACION DE CREATININA VITROS		
Talla	160	cm
Peso	69	Kg
Volumen orina recolectada	3,050	ml
Creatinina sanguínea	1.40	mg/dl
Creatinina Orina	32.00	mg/dl
Tiempo de recolección en horas	24	
Tiempo de recolección en minutos	1440	
Volumen minuto	2.12	ml/minuto
Superficie corporal	1.53	mt^2 SC
Depuración de creatinina	112.96	ml/minuto
Depuración de creatinina St. de reporte	127.45	**ml/min St. 1.73 mt^2 SC**

- **Referencia:** Balcells La clínica y el Laboratorio
- Superficie corporal = [(Peso)*(talla)/3600]/2
- **Fórmula de Mosteller:** SC = [(cm x Kg)/3600] x 1/2
- Modificación hecha a partir de la fórmula de Gehan

5.6.5 AMILASA

Descripción:

La ***amilasa***, es una enzima amilolítica producida por el páncreas endocrino y las glándulas salivales, que ayuda a la digestión de carbohidratos complejos y posteriormente, su eliminación renal.

Su uso clínico, se da en la pancreatitis aguda.

Condición pre analítica del paciente:

- Ayuno de 8 horas (ideal en casos de pacientes estables, no así en casos de emergencia).
- En casos en que no se pueda mantener un ayuno ideal, para la toma de muestra tener en consideración por lo menos 2 horas después de ingesta de alimentos y antes de iniciar el tratamiento, si ha sido indicado.

Muestra: Suero, plasma con heparina de litio y EDTA, líquidos de drenaje abdominal y orina simple o de recolección de 24 horas.

Recolección de Orina de 24 horas para el dosaje de amilasa:

- Recolectar la muestra en un contenedor frío o refrigerado sin preservantes por un lapso de 24 horas, descartando la primera orina de la mañana.
- Para pacientes cateterizados, mantener la bolsa de drenaje sobre hielo y vaciar la orina en la recogida de contenedores por hora.
- Fomentar la ingesta de líquidos durante todo el período de recogida si no hay contraindicación alguna.

Muestras de drenaje abdominal:

- Éste, es un procedimiento estrictamente médico, y como tal, la muestra será tomada por personal externo al Departamento de Patología Clínica.

Consideraciones pre analíticas:

- Amilasa en orina no debe ser realizada a mujeres durante la menstruación.
- Rechazar muestras hemolizadas.
- Las drogas que pueden elevar falsamente los resultados de amilasa sérica son: ácido acetilsalicílico, asparagina, corticosteroides, alcohol etílico (en grandes cantidades), azatioprina, corticotropina, narcóticos analgésicos, sales de flúor, furosemida, indometacina, diuréticos de asa, anticonceptivos orales, rifampicina y diuréticos tiazídicos.
- Disminución de resultados falsamente de amilasa sérica puede ser causada por oxalatos y citratos.
- El pH de una muestra menor a 6 puede causar hasta un 30% en la reducción del resultado.
- La necrosis pancreática con hemorragia masiva causa tanta destrucción de células pancreáticas que la amilasa no puede ser producido, por lo que no hay elevación de amilasa sérica.
- La contaminación de la muestra de suero con la saliva hará que los resultados se eleven falsamente.

- Suero lipémico o con hipertrigliceridemia puede dar lugar a resultados falsamente bajos o normales.
- Valores elevados falsos de amilasa sérica pueden ser causados por insuficiencia renal.
- Los valores de referencia aumentan durante el embarazo.
- La macroamilasemia provoca un incremento del nivel de amilasa en orina, pero la concentración de amilasa en suero es normal.
- La determinación de amilasa en orina no produce resultados falsamente elevados en pacientes con insuficiencia renal a diferencia de la amilasa sérica.
- Valores de amilasa sérica normal puede ocurrir en la pancreatitis, especialmente pancreatitis crónica y pancreatitis severa.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de amilasa

El método de química seca VITROS AMYL se realiza utilizando los slides VITROS AMYL y el Kit de Calibrador 03 VITROS de Bioquímica en los Analizadores VITROS 350.

El slide VITROS AMYL es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. La capa difusora contiene el sustrato de almidón coloreado (colorante unido covalentemente a amilopectina) para la reacción. La amilasa presente en la muestra cataliza la hidrólisis de este almidón coloreado en azúcares coloreados más pequeños. Estos azúcares coloreados se difunden a la capa reactiva subyacente.

La densidad de la reflectancia de los azúcares coloreados en la capa reactiva se mide por espectrofotometría de reflectancia a los 2, 3 y 5 minutos.

La diferencia de la densidad de la reflectancia entre las dos lecturas es proporcional a la actividad de la amilasa en la muestra.

Secuencia de la reacción:

amilopectina coloreada → (amilasa) → azúcares coloreados

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Frecuencia a dos puntos.
- **Sistema VITROS** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350.
- **Tiempo aproximado de incubación** : 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.

- **Longitud de onda** : 540 nm
- **Volumen de la muestra** : 10 µL
- **Linealidad** : 30 – 1300 U/L
- **Valor de referencia** : 30 – 110 U/L
- **Calibrador** : Kit 03
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.6.6 LIPASA

Descripción:

La ***lipasa*** pancreática es una enzima que convierte las grasas y triglicéridos en ácidos grasos y glicerol. El páncreas es el único órgano que tiene una importante actividad de lipasa. En la pancreatitis aguda, la lipasa sérica comienza a incrementarse en 2 a 6 horas, llegando a tener picos entre las 12 a 30 horas, y sigue siendo elevada, pero disminuye lentamente entre los 2 a 4 días. La lipasa se eleva y cae junto con la amilasa en la pancreatitis aguda, pero es un marcador más específico que la amilasa para esta condición.

Condición pre analítica del paciente:

- Ayuno de 8 horas (ideal en casos de pacientes estables, no así en casos de emergencia).
- En casos en que no se pueda mantener un ayuno ideal, para la toma de muestra tener en consideración por lo menos 2 horas después de ingesta de alimentos y antes de iniciar el tratamiento, si ha sido indicado.

Muestra: Suero, plasma con heparina de litio y EDTA, líquidos de drenaje abdominal

Observaciones:

- La Colangiopancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE) puede aumentar la actividad de la lipasa.
- Una venopunción traumática puede inhibir la actividad de la lipasa.
- Aumentan los valores fisiológicos durante el embarazo.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de lipasa pancreática

El método de química seca VITROS LIPA se realiza utilizando los slides VITROS LIPA y el VITROS Chemistry Products Calibrator Kit 03 de VITROS Chemistry Systems.

El slide VITROS LIPA es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster. El análisis se basa en un método enzimático descrito por Mauck.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. El método incorpora colipasa, la cual facilita la adsorción de la lipasa en las micelas del sustrato en presencia de sales biliares. Seguidamente, la lipasa cataliza la hidrólisis de los ésteres de triglicerol no solubles en agua. El método utiliza la enzima diacetinasa para convertir el sustrato 2,3-diacetilglicerol a glicerol. La enzima glicerol kinasa convierte el glicerol a L-α-glicerofosfato. La L-α-glicerofosfato oxidasa cataliza la oxidación de L-α-glicerofosfato para generar peróxido de hidrógeno. La peroxidasa oxida un leucoderivado para producir un pigmento. El cambio resultante en la densidad de reflexión se mide en 2 momentos diferentes.

La diferencia de la densidad de reflexión es proporcional a la actividad de la lipasa presente en la muestra.

Secuencia de la reacción:

1-oleoil-2,3-diacetilglicerol → (lipasa, colipasa) → 2,3-diacetilglicerol + ácido oleico (pH 8,5)

2,3-diacetilglicerol → (diacetinasa) → glicerol + ácido acético

glicerol + ATP → (glicerol quinasa) → L-α-glicerofosfato + ADP (**$MgCl_2$**)

L-α-glicerofosfato + O_2 → (L-α-glicerofosfato oxidasa) → fosfato de dihidroxiacetona + H_2O_2

H_2O_2 + leucoderivado → (peroxidasa) → pigmento + $2H_2O$

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Frecuencia a dos puntos.
- **Sistema VITROS** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250/350.
- **Tiempo aproximado de incubación:** 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 540 nm
- **Volumen de muestra** : 5.5 uL
- **Linealidad** : 10 – 2000 U/L
- **Valor de referencia** : 23 – 300 U/L
- **Calibrador** : Kit 03
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.6.7 CREATIN KINASA FRACCIÓN MB (CK-MB)

Descripción:

La ***Creatina Kinasa*** (***CK***) es una enzima intramuscular constituida por una subunidad M (músculo) y otra subunidad B (brain/cerebro) que se combinan dando lugar a las isoenzimas CK-MM (muscular), CK-BB (cerebral) y CK-MB (miocárdica). La elevación sérica de CK y de CK-MB constituye un indicador de injuria al miocardio. Luego de un infarto agudo de miocardio, en aproximadamente el 55% de los casos, el pico máximo de elevación de CK y CK-MB se produce en forma simultánea, mientras que en el 45% de los casos la elevación máxima de CK-MB precede a la de CK total. CK-MB se encuentra además del músculo cardiaco, en lengua, diafragma, útero, próstata e intestino delgado.

Condición del paciente:

- En ayunas (ideal). Lo usual es que no se tome en cuenta ello por ser casos de emergencia (angina de pecho).

Muestra: Suero, plasma con heparina de litio.

Consideraciones pre analíticas:

- Si está indicada la aplicación de inyección intramuscular (IM), éstas se deben aplicar luego de la toma de muestra para esta prueba.
- No se sugiere realizar la determinación de CK-MB en pacientes a quienes recientemente se les haya extraído líquido pericárdico.
- La hemólisis franca invalida los resultados.
- Tener presente procedimientos invasivos tales como cateterismo cardíaco (miocardio con lesión), cardioversión, arteriografía coronaria (con lesión de miocardio). Estos pueden elevar falsamente los valores de CK – MB.
- La presencia de macrokinasa, los infartos intestinales, procesos de gastroenterocolitis agudas provocan un incremento del nivel de CK-MB en suero.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de Creatin kinasa fracción MB (CK-MB):

El método de química seca VITROS CKMB se realiza utilizando los slides VITROS CKMB y el Kit de Calibrador 06 VITROS de Bioquímica en los Analizadores VITROS.

El slide VITROS CKMB es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. Esta capa contiene tensioactivos; N-acetilcisteína (NAC), que activa la CK sin necesidad de hacer un pretratamiento de la muestra; y anticuerpos anti CK-M humana de cabra, que inhiben la actividad de la CK-MM (músculo) y~50% de la actividad de la CK-MB

(corazón). La actividad residual de la CK corresponde al 50% de la concentración de isoenzima CK-MB total más la totalidad de la CK-BB (relativamente rara).

En la capa reactiva, la creatina kinasa de la muestra cataliza la conversión del fosfato de creatina y del difosfato de adenosina (ADP) a creatina y trifosfato de adenosina (ATP). En presencia de glicerol kinasa, el glicerol es fosforilado a L-α-glicerofosfato, que seguidamente es oxidado a fosfato de dihidroxiacetona y H_2O_2 en la reacción catalizada por la L-α-glicerofosfato oxidasa.

Por último, el peróxido de hidrógeno oxida al leucoderivado en presencia de peroxidasa para formar un colorante.

El filtro de corte de la longitud de onda corta de la montura del slide minimiza los efectos de la frecuencia del blanco de la luz incidente durante el desarrollo del colorante.

La frecuencia del cambio en la densidad de reflexión se convierte a actividad enzimática.

Secuencia de la reacción:

CK-MM + CK-MB → (anticuerpo anti CK–M) → inhibición de la CK-M

fosfato de creatina + ADP creatina kinasa – B → creatina + ATP (**NAC $MgCl_2$**)

glicerol + ATP → (glicerol kinasa) → L-α-glicerofosfato + ADP

L-α-glicerofosfato + O_2 → (L-α-glicerofosfato oxidasa) → Fosfato de dihidroxiacetona + H_2O_2

H_2O_2 + leucoderivado → (peroxidasa) → pigmento + $2H_2O$

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Multifrecuencia.
- **Sistema Vitros** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350
- **Tiempo aproximado de incubación:** 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 670 nm
- **Volumen de la muestra** : 11 µL
- **Linealidad** : 1.0 – 300 U/L
- **Intervalo de referencia** : 1.0 – 22.0 U/L
- **Calibración** : Kit 06
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.6.8 CREATIN KINASA (CK) TOTAL

Descripción:

La ***creatina kinasa*** (***CK***) es una enzima intracelular localizada en mayor proporción en músculos cardíaco y esquelético y también en cerebro. Un aumento en la actividad sérica, es por lo tanto indicio de lesión celular. En el caso del infarto agudo de miocardio (IAM), la actividad sérica de CK comienza a aumentar entre 02 y 06 horas después de producido el episodio y alcanza un máximo después de 18 a 24 horas. Los picos alcanzados pueden llegar a ser 20 veces el límite superior normal, razón por la cual es quizás una de las pruebas más sensibles para el diagnóstico de IAM.

Condición del paciente:

- En ayunas (ideal). Lo usual es que no se tome en cuenta ello por ser casos de emergencia (angina de pecho).

Muestra:

- Suero, plasma con heparina de litio.

Consideraciones pre analíticas:

- Si está indicada la aplicación de inyección intramuscular (IM), éstas se deben aplicar luego de la toma de muestra para esta prueba.
- No se sugiere realizar la determinación de CK en pacientes a quienes recientemente se les haya extraído líquido pericárdico.
- La hemólisis franca invalida los resultados.
- Tener presente procedimientos invasivos tales como cateterismo cardíaco (miocardio con lesión), cardioversión, arteriografía coronaria (con lesión de miocardio), electrocauterización, masaje muscular, electromiografía. Estos pueden elevar falsamente los valores de CK total.
- Pacientes deportistas y quienes viven en zonas alto andinas, suelen tener valores elevados fisiológicamente de esta enzima, y como tal, sus resultados deben ser evaluados considerando dichas observaciones.
- CK total es considerado como un marcador para la distrofia muscular de Duchenne's.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de Creatin kinasa:

El método de química seca VITROS CK se realiza utilizando los slides VITROS CK y el Kit de Calibrador 03 VITROS de Bioquímica en analizadores VITROS.

El slide VITROS CK es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas

subyacentes. Esta capa contiene también *N*-acetilcisteína (NAC) para activar la CK sin necesidad de hacer un pretratamiento de la muestra.

Al depositar la muestra en el slide, la creatina kinasa cataliza la conversión del fosfato de creatina y de ADP a creatina y ATP.

En presencia de glicerol kinasa (GK), el glicerol es fosforilado a L-α-glicerofosfato por la ATP.

La oxidación del L-α–glicerofosfato a fosfato de dihidroxiacetona y peróxido de hidrógeno se produce en presencia de L-α-glicerofosfato oxidasa (α–GPO).

Por último, el peróxido de hidrógeno oxida al leucoderivado en presencia de peroxidasa para formar un colorante.

Durante la incubación se controlan las densidades por reflexión. Seguidamente, el porcentaje de cambio de la densidad por reflexión se convierte a actividad enzimática.

Secuencia de la reacción

Fosfato de creatina + ADP → CK → creatina + ATP (**NAC, Mg^{+2}**)

glicerol + ATP → (Glicerol kinasa) → L-α-glicerofosfato + ADP

L-α-glicerofosfato + O_2 → (α –Glicerofosfato oxidasa) → fosfato de dihidroxiacetona + H_2O_2

H_2O_2 + leucoderivado → (peroxidasa) → pigmento + $2H_2O$

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Multifrecuencia.
- **Sistema Vitros** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350.
- **Tiempo aproximado de incubación** : 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 670 nm
- **Volumen de la muestra** : 11 µL
- **Linealidad** : 20 – 1600 U/L
- **Valor referencial** : 30 – 170 U/L
- **Calibración** : Kit 03.
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.6.9 GAMMA-GLUTAMIL TRANSFERASA (GGTP)

Descripción:

GGTP es una enzima excretada por las vías biliares que ayuda al transporte de aminoácidos y péptidos a través de las membranas celulares. Se encuentra en el hígado, riñones, páncreas, cerebro, corazón, glándulas salivales y próstata. La progresión de carcinoma se

asocia con el aumento de los niveles, y de regresión de carcinoma se asocia con disminución de sus niveles.

Condición pre analíticas del paciente:

- Ayuno de 8 horas (ideal en casos de pacientes estables, no así en casos de emergencia).
- Abstenerse de beber alcohol durante 24 horas antes de la prueba.
- Rechazar muestras muy hemolizadas.
- Valores elevados se pueden obtener tras medicación con fenitoina o fenobarbital (análisis de laboratorio alternativos es la leucina aminopeptidasa (LAP) o 5' – nucleótido).
- Dieta rica en carnes rojas y de cerdo, pueden elevar los valores de GGTP.
- La estabilidad de las muestras es el siguiente:
    - Temperatura ambiente, 5 días.
    - Refrigerado (4 °C): 7 días.
    - Congelados (-20 °C), 90 días.
- GGTP es más precisa que la fosfatasa alcalina para la enfermedad hepática, ya que no se ve afectada por alteraciones de músculos esqueléticos.

Muestra: Suero, plasma con heparina de litio.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de GGTP:

El método de química seca VITROS GGT se realiza utilizando los slides VITROS GGT y el Kit de Calibrador 03 VITROS de Bioquímica en los Analizadores VITROS.

El slide VITROS GGT es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, la misma que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. La enzima GGTP cataliza la transferencia de la porción γ-glutamilo de la L-γ-glutamil-*p*-nitroanilida a la glicilglicina, de esta manera, produce simultáneamente *p*-nitroanilina.

Se mide la frecuencia de cambio en la densidad de reflectancia y se usa para calcular la actividad enzimática de la GGT.

Secuencia de la reacción:

L-γ-glutamil-*p*-nitroanilida + glicilglicina → (GGT) → *p*-nitroanilina + γ-glutamil glicilglicina

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Multifrecuencia.

- **Sistema Vitros** : 5.1 FS, 950, 750, 550, 250, 350.
- **Tiempo aproximado de incubación** : 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 400 nm
- **Volumen de la muestra** : 11 µL
- **Linealidad** : 5.0 – 1400 U/L
- **Valor referencial** : 12.0 – 73.0 U/L
- **Calibración** : Kit 03.
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.6.10 TRANSAMINASA GLUTAMICO PIRUVICA (TGP) / ALANINA AMINOTRANSFERASA (ALT)

Descripción:

Alanina aminotransferasa (ALT) es una enzima principalmente producida por el hígado, pero, se encuentra también en ciertos fluidos corporales (como la bilis, líquido cefalorraquídeo, plasma y saliva), en el corazón, hígado, riñones, páncreas, y músculo esquelético. Actúa como un catalizador en la reacción conocida como transaminación que es necesaria para la producción de aminoácidos. Esta prueba es más comúnmente utilizada para evaluar daño hepático, donde los niveles pueden elevarse hasta 50 veces por encima de los límites normales. Los niveles de ALT se comparan con los de otra transaminasa, llamada ***aspartato aminotransferasa*** (***AST***) para evaluar el grado de daño hepático y confirmar la existencia de una causa hepática (aumento de AST). Después de las primeras etapas de daño hepático, los niveles de ALT superan los de AST. Mediciones seriadas permiten rastrear el curso de la hepatitis. Esta prueba también puede ser utilizada por los bancos de sangre para la detección de la hepatitis en las muestras de sangre de donantes.

Condiciones pre analíticas del paciente:

- Ayuno de 8 horas (ideal en casos de pacientes estables, no así en casos de emergencia)
- Hemólisis causa resultados poco fiables.
- Los medicamentos que pueden provocar el aumento de resultados falsamente incluyen eritromicina, opiáceos, oxacilina sódica y ampicilina.
- Valores falsamente disminuidos pueden ocurrir en beriberi, cetoacidosis diabética, hemodiálisis (crónica), enfermedad del hígado (grave), y uremia o con la ingestión de café.

- ***La muestra puede ser refrigerada, más no congelada.***

Muestra: Suero, plasma con heparina de litio.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de ALT / TGP:

El método de química seca VITROS ALT se realiza utilizando los slides VITROS ALT y el Kit de Calibrador 03 VITROS de Bioquímica en los Analizadores VITROS.

El slide VITROS ALT es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. La capa difusora contiene los sustratos de la ALT, L-alanina y α-cetoglutarato sódico. La alanina aminotransferasa cataliza la transferencia del grupo amino de la L-alanina al α-cetoglutarato para producir piruvato y glutamato. A continuación, la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) cataliza la conversión de piruvato y NADH en lactato y NAD+.

La frecuencia de oxidación del NADH se monitoriza por espectrofotometría de reflectancia. La frecuencia de cambio en la densidad de reflectancia es proporcional a la actividad enzimática.

Secuencia de la reacción:

alanina + α-cetoglutarato → (ALT) → piruvato + glutamato (**piridoxal-5-fosfato**)

piruvato + NADH + H^+ → (LDH) → lactato + NAD^+

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Multifrecuencia.
- **Sistema Vitros** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350.
- **Tiempo aproximado de incubación** : 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 340 nm
- **Volumen de la muestra** : 11 µL
- **Linealidad** : 3.0 – 1000 U/L
- **Valor referencial** :
  - **Mujeres** : 9.0 – 52.0 U/L
  - **Varones** : 21.0 – 72.0 U/L
  - **Niños** : 3.0 – 30.0 U/L
- **Calibración** : Kit 03.
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.6.11 TRANSAMINASA GLUTAMICO OXALACETICA (TGO) / ASPARTATO AMINOTRANSFERASA (AST)

Descripción:

La ***AST***, es un catalizador enzimático que se encuentra principalmente en el corazón, hígado y tejido muscular. Se encuentra en dos formas o isoenzimas: c-AST (presente en el citoplasma) y m-AST (se encuentra en las mitocondrias). Los aumentos en los niveles séricos de AST indican que hay grave daño celular. Además, AST puede encontrarse unida en complejos con IgA, en casos de cáncer hepático. AST también es evaluado en comparación con la alanina aminotransferasa (ALT) en serie para controlar el daño hepático.

Los aumentos de la actividad de la AST en suero se observan habitualmente después de un infarto de miocardio, embolia pulmonar, traumatismo del músculo esquelético, cirrosis alcohólica, hepatitis vírica y hepatitis inducida por fármacos.

Condiciones pre analíticas del paciente:

- Ayuno de 8 horas (ideal en casos de pacientes estables, no así en casos de emergencia).
- Hemólisis puede ocasionar un falso incremento de los resultados.
- La deficiencia de piridoxal fosfato disminuye los valores obtenidos.

Muestra: Suero, plasma con heparina de litio, líquidos y fluidos serosos.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de AST / TGO.

El método de química seca VITROS AST se realiza utilizando los slides VITROS AST y el Kit de Calibrador 03 VITROS de Bioquímica en los Analizadores VITROS.

El slide VITROS AST es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. En el ensayo de la aspartato aminotransferasa, el grupo amino de L-aspartato se transfiere al α-cetoglutarato enpresencia de piridoxal-5-fosfato (P-5-P) para producir glutamato y oxalacetato. El oxalacetato formado en la desaminación del L-aspartato es convertido a piruvato y dióxido de carbono por la oxalacetato descarboxilasa. La piruvato oxidasa oxida al piruvato en acetilfosfato y peróxido de hidrógeno. El paso final de la reacción implica la oxidación catalizada por la peroxidasa de un leucoderivado para dar un pigmento coloreado. La frecuencia de oxidación del leucoderivado se monitoriza por espectrofotometría de reflectancia. La frecuencia de cambio en la

densidad de reflectancia es proporcional a la actividad enzimática en la muestra. El filtro de corte de la longitud de onda corta presente en la montura del slide minimiza los efectos de frecuencia del blanco de la luz incidente durante el desarrollo del colorante.

Secuencia de la Reacción:

Aspartato + α-cetoglutarato → (AST) → oxalacetato + glutamato (**piridoxal-5-fosfato**)

oxalacetato → (oxalacetato descarboxilasa) → piruvato + CO_2

piruvato + fosfato + O_2 → (piruvato oxidasa) → H_2O_2 + acetilfosfato

H_2O_2 + leucoderivado → (peroxidasa) → colorante

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Multifrecuencia.
- **Sistema Vitros** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350.
- **Tiempo aproximado de incubación** : 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 670 nm
- **Volumen de la muestra** : 7 µL
- **Linealidad** : 3.0 – 750 U/L
- **Valor referencial** :
  - **Mujeres** : 14.0 – 36.0 U/L
  - **Varones** : 17.0 – 59.0 U/L
  - **Niños** : 3.0 – 40.0 U/L
- **Calibración** : Kit 03.
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.6.12 FOSFATASA ALCALINA (ALP)

Descripción:

La Fosfatasa alcalina es una enzima que se encuentra en los huesos, hígado, intestinos, placenta y que se incrementa durante los periodos de crecimiento óseo (actividad osteoblástica), enfermedad hepática y obstrucción biliar. Se produce a partir de las isoenzimas ósea, hepática, placentaria, biliar e intestinal que se pueden separar por electroforesis. Las isoenzimas deben medirse en cualquier paciente que tiene un elevado nivel de fosfatasa alcalina.

Condiciones pre analíticas del paciente:

- Ayuno de 8 horas (ideal en casos de pacientes estables, no así en casos de emergencia).
- Rechazar muestras hemolizadas
- ***Fármacos hepatotóxicos*** administrados 12 horas antes de recogida la muestra ***invalida*** la prueba.
- Valores falsamente elevados pueden ser causados por la falta en realizar rápidamente la prueba o mantener por mucho tiempo las muestras a temperatura ambiente.
- Muchos medicamentos pueden afectar el nivel de fosfatasa alcalina en la sangre y es probable que el médico aconseje dejar de tomar algunos de ellos antes del examen. Sin embargo, nunca se debe suspender un medicamento sin hablar primero con el médico. Estos medicamentos son: alopurinol, algunos medicamentos para la artritis y la diabetes, antiinflamatorios, píldoras anticonceptivas, cortisona, clorpromazina, hormonas masculinas, metildopa, analgésicos narcóticos, propanolol, tranquilizantes, antidepresivos tricíclicos.
- Las isoenzimas son requeridas para interpretar el valor contributario del hígado, huesos y placenta en el incremento de fosfatasa alcalina total.
- La diferenciación de las isoenzimas ósea y hepática es difícil, porque ambos proceden de un solo gen (posible uso de anticuerpo monoclonal)
- Algunas estatinas disminuyen los valores de la fosfatasa alcalina ósea específica, pero los resultados aún no son concluyentes.

Muestra: Suero, plasma con heparina de litio

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de Fosfatasa alcalina (ALP)

El método de química seca VITROS ALKP se realiza utilizando los slides VITROS ALKP y el Kit de Calibrador 03 VITROS de Bioquímica en los Analizadores VITROS.

El slide VITROS ALKP es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. La capa difusora contiene el sustrato de fosfato de *p*-nitrofenilo y demás componentes necesarios para la reacción. La ALKP contenida en la muestra cataliza la hidrólisis del fosfato de *p*-nitrofenilo a *p*-nitrofenol en pH alcalino.

El *p*-nitrofenol se difunde a la capa subyacente, donde se controla mediante espectrofotometria de reflectancia. La frecuencia del cambio en la densidad de reflexión se convierte a actividad enzimática.

Secuencia de la reacción:

fosfato de *p*-nitrofenilo → ALP (Mg+2, AMP) → *p*-nitrofenol + H3PO4

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Multifrecuencia.
- **Sistema Vitros** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350.
- **Tiempo aproximado de incubación** : 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 400 nm
- **Volumen de la muestra** : 11 µL
- **Linealidad** : 20.0 – 1500 U/L
- **Valor referencial** : 38.0 – 126 U/L
- **Calibración** : Kit 03.
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.6.13 COLESTEROL TOTAL

Descripción:

El colesterol es un esterol exógeno compuesto sintetizado en el hígado a partir de las grasas dietéticas y endógenas de las células. Está presente en todos los tejidos del cuerpo y es un importante componente de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), el cerebro y las células nerviosas, membranas celulares, y algunos cálculos biliares. Hipercolesterolemia, combinado con bajos niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL), aumenta el riesgo de desarrollar enfermedad cardiaca arteriosclerótica. Los niveles de colesterol tienden a disminuir temporalmente con enfermedades crónicas o cirugía. Cuando una evaluación completa del riesgo de enfermedad del corazón es deseado, el total de colesterol se mide junto con los componentes del perfil lipídico.

Condiciones pre analiticas del paciente:

- Ayuno de 12 – 14 horas.
- Consumir una dieta que contenga niveles similares de colesterol durante 3 semanas antes de esta prueba.

- Si esta prueba se realiza como parte de un perfil lipídico completo, no debe haber ingesta de alimentos y líquidos, a excepción de agua, durante 14 horas y de alcohol durante 72 horas antes de la toma de muestra.
- La cena antes de la prueba debe estar libre de colesterol alto y los alimentos tener menos de un 30% de contenido en grasa total.
- Las drogas que alteren resultados deberían ser evitados durante 24 horas, siempre que sea posible y su médico tratante lo autorice.
- Rechazar muestras hemolizadas
- Los niveles pueden ser inferiores cuando la muestra de sangre se toma con el paciente reclinado durante 20 minutos o más que cuando está de pie.
- Los niveles de colesterol debe ser tomados siempre ala misma hora del día y con el paciente en la misma posición a efectos de comparar resultados
- Los medicamentos que pueden causar un ***falso incremento*** incluyen el ácido ascórbico, bromuros, corticosteroides, yoduros clorpromazina y vitamina A. Los medicamentos que pueden causar una ***falsa disminución*** de los niveles incluyen nitratos, nitritos, y propiltiouracilo. Las estatinas son las drogas preferidas para el tratamiento de la hipercolesterolemia y la hipertrigliceridemia de fibratos.
- La muestra de colesterol total es estable durante 7 días a temperatura ambiente cuando no está hemolizadas.
- El colesterol se puede convertir en esteres de colesterol libre cuando la muestra se encuentra a temperatura ambiente.

Muestra: Suero o plasma con heparina de litio.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de colesterol total:

El método de química seca VITROS CHOL se realiza utilizando los slides VITROS CHOL y el Kit de calibrador 2 VITROS de Bioquímica en los Analizadores VITROS.

El slide VITROS CHOL es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster. El análisis se basa en un método enzimático similar al propuesto por Allain et al.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. El tensioactivo Triton X-100 (TX100) contenido en la capa difusora ayuda a disociar el colesterol y los ésteres de colesterol de los complejos de lipoproteínas presentes en la muestra. La hidrólisis de los

ésteres de colesterol a colesterol es catalizada por el éster de colesterol hidrolasa. Después, el colesterol libre es oxidado en presencia de colesterol oxidasa para formar colestenona y peróxido de hidrógeno. Por último, el peróxido de hidrógeno se oxida a un leucoderivado en presencia de peroxidasa para producir un colorante.

La densidad del colorante formado es proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra y se mide mediante espectrofotometría de reflectancia.

Secuencia de la reacción:

lipoproteína → (TX100) → colesterol + ésteres de colesterol + proteínas

ésteres de colesterol + H_2O → (éster de colesterol hidrolasa) → colesterol + ácidos grasos

colesterol + O_2 → (colesterol oxidasa) → colest-4-en-3-ona + H_2O_2

H_2O_2 + leucoderivado → (peroxidasa) → colorante + $2H_2O$

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Colorimétrico.
- **Sistema Vitros** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350.
- **Tiempo aproximado de incubación** : 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 540 nm
- **Volumen de la muestra** : 5.5 µL
- **Linealidad** : 50.0 – 325.0 mg/dL
- **Valor referencial** :
  - Valor Óptimo : 92.0 – 200.0 mg/dL
  - Límite Alto : 201.0 – 239.0 mg/dL
  - Alto crítico : >ó= 240.0 mg/dL
- **Calibración** : Kit 02
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.6.14 TRIGLICÉRIDOS

Descripción:

Es un compuesto de ácidos grasos o ésteres de glicerol que constituye una parte importante (hasta el 70%) de lípidos de muy baja densidad (VLDL) y una pequeña parte (<10%) de baja densidad (LDL) en muestras de suero en ayunas. Ingresa por la dieta y son llevados como parte de los quilomicrones a través del sistema linfático y sanguíneo al tejido adiposo, donde se liberan para su almacenamiento. Los triglicéridos también son sintetizados en el hígado a partir de ácidos

grasos y de glucosa y proteínas del propio cuerpo cuando las necesidades sobrepasan el ingreso por la dieta y, a continuación, son almacenados en el tejido adiposo. Pueden ser recuperados y más tarde formar glucosa mediante la gluconeogénesis cuando sea necesario por el organismo. Los niveles de triglicéridos se tienen en cuenta con el colesterol total, lipoproteínas de alta densidad de colesterol, y quilomicrones para categorizar el riesgo cardíaco de un paciente.

Condiciones pre analíticas del paciente:

- Ayuno de 12 – 14 horas.
- Si esta prueba se realiza como parte de un perfil lipídico completo, no debe haber ingesta de alimentos y líquidos, a excepción de agua, durante 14 horas y de alcohol durante 72 horas antes de la toma de muestra.
- El síndrome metabólico consiste de un grupo de resultados que ocurren juntos: Obesidad, elevación de triglicéridos, niveles bajos de lipoproteínas de alta densidad (Colesterol HDL), hiperglicemia e hipertensión. Esta condición es cada vez más prevalente y se asocia con un mayor riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares y la diabetes tipo 2.
- Las lipoproteínas de baja densidad son morfológicamente más pequeñas y más densas en presencia de hipertrigliceridemia. Este cambio está asociado con un mayor riesgo de aterogénesis.
- Los medicamentos que pueden causar resultados falsamente elevados incluyen:
  - Anticonceptivos orales.
  - Miconazol.
  - Estrógenos.
  - Furosemida.
  - Colestiramina.
- Los niveles de triglicéridos en personas de raza negra han demostrado ser inferiores a las de personas de raza caucásica.

Muestra: Suero o plasma con heparina de litio.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de triglicéridos

El método de química seca VITROS TRIG se realiza utilizando los slides VITROS TRIG y el Kit de calibrador 2 VITROS de Bioquímica en los Analizadores VITROS.

El slide VITROS TRIG es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster. El análisis se basa en un método enzimático descrito por Spayd et al.2

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas

subyacentes. El tensioactivo Triton X-100 en la capa difusora ayuda a disociar los triglicéridos de los complejos de lipoproteínas presentes en la muestra. A continuación las moléculas de triglicéridos son hidrolizadas por la lipasa para producir glicerol y ácidos grasos. El glicerol se difunde a la capa reactiva donde es fosforilado por la glicerol kinasa en presencia de trifosfato de adenosina (ATP). Después, y en presencia de L-α-glicerol-fosfato oxidasa, el L-α-glicerofosfato es oxidado a fosfato de dihidroxiacetona y peróxido de hidrógeno. La reacción última implica la oxidación de un leucoderivado por el peróxido de hidrógeno para producir un colorante.

La densidad del colorante formado es proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra y se mide mediante espectrofotometría de reflectancia.

Secuencia de la reacción:

lipoproteínas → (tensioactivo) → triglicéridos + proteínas

triglicéridos + H_2O → (lipasa) → glicerol + ácidos grasos

glicerol + ATP → (glicerol kinasa) → L-α-glicerofosfato + ADP (**$MgCl_2$**)

L-α-glicerofosfato + O_2 → (L-α-glicerol-fosfato oxidasa) → fosfato de dihidroxiacetona + H_2O_2

H_2O_2 + leucoderivado → (peroxidasa) → pigmento + $2H_2O$

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Colorimétrico.
- **Sistema Vitros** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350.
- **Tiempo aproximado de incubación** : 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 540 nm
- **Volumen de la muestra** : 5.5 µL
- **Linealidad** : 50.0 – 325.0 mg/dL
- **Valor referencial** :
  - Valor Deseable : 30.0 – 150.0 mg/dL
  - Valor Esperado : 151.0 – 199.0 mg/dL
  - Limite Alto : 200.0 – 499.0 mg/dL
  - Alto crítico : >ó= 500.0 mg/dL
- **Calibración** : Kit 02
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.6.15 COLESTEROL HDL

Descripción:

Lipoproteínas de alta densidad (HDL) es un tipo de colesterol transportado por lipoproteínas alfa. Protege contra el riesgo de enfermedad arterial coronaria y ha demostrado ser inversamente relacionada con el riesgo de enfermedad coronaria. Los niveles de HDL menores a 35 mg/dL en hombres y a 40 mg/dL en mujeres son factores de riesgo para enfermedad coronaria. Los niveles de HDL menores a 40 mg/dL en los hombres y a 50 mg/dL en las mujeres son parte de un grupo de indicadores que en conjunto indican la presencia de síndrome metabólico.

Condiciones pre analíticas del paciente:

- Ayuno de 12 horas.
- El consumo de una dieta rica en hidratos de carbono o grasas poliinsaturadas así como el fumar cigarrillos disminuye los resultados.
- Las estatinas disminuyen los valores de colesterol HDL.
- No se deben usar muestras lipémicas (triglicéridos > 400 mg/dL).

Muestra: Suero o plasma con heparina de litio.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de HDL Colesterol

El reactivo magnético para Colesterol HDL de VITROS se usa para preparar muestras para el análisis del colesterol HDL. Una vez pretratada la muestra, el colesterol HDL se determina con el slide VITROS CHOL de Bioquímica y el Kit de Calibrador 2VITROS de Bioquímica en los Analizadores VITROS.

Las HDL se separan por precipitación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y de las lipoproteínas de muy baja densidad(VLDL) usando sulfato de dextrano (PM 50000) y cloruro de magnesio.1 El reactivo también contiene partículas de hierro recubiertas con un polímero que potencia la captura de las lipoproteínas que no son del tipo HDL sobre las partículas. El sobrenadante que contiene el colesterol HDL se prepara eliminando las lipoproteínas precipitadas mediante la aplicación de un campo magnético.

En el slide se deposita una gota de muestra pretratada del paciente que se distribuye uniformemente desde la capa difusora alas capas subyacentes. El tensioactivo Tritón X-100 (TX100) contenido en la capa difusora ayuda a disociar el colesterol y los ésteres de colesterol de los complejos de lipoproteínas presentes en la muestra. La hidrólisis de los ésteres de colesterol a colesterol es catalizada por el éster de colesterol hidrolasa. Después, el colesterol libre es oxidado en presencia de colesterol oxidasa para formar colestenona y peróxido de hidrógeno.

Por último, el peróxido de hidrógeno se oxida a un leucoderivado en presencia de peroxidasa para producir un colorante.

La densidad del colorante formado es proporcional a la concentración de colesterol HDL presente en la muestra pretratada y se mide por espectrofotometría de reflectancia.

Secuencia de la reacción:

lipoproteínas de alta densidad → (TX100) → colesterol + ésteres de colesterol + proteínas

ésteres de colesterol + H_2O → (colesterolester hidrolasa) → colesterol + ácidos grasos

colesterol + O_2 → (colesterol oxidasa) → colest-4-en-3-ona + H_2O_2

H_2O_2 + leucoderivado → (peroxidasa) → colorante + $2H_2O$

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Colorimétrico.
- **Sistema Vitros** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350.
- **Tiempo aproximado de incubación** : 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 670 nm
- **Volumen de la muestra** : 10 µL
- **Linealidad** : 5.00 – 110.0 mg/dL
- **Valor referencial** :
  - Valor Deseable : >ó= 65.0 mg/dL
  - Riesgo Moderado: 45.0 – 64.0 mg/dL
  - Alto Riesgo : <ó= 45.0 mg/dL
- **Calibración** : Kit 25
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.6.16 COLESTEROL LDL

Descripción:

Las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) transportan el colesterol y triglicéridos en el plasma desde el hígado a otras partes del cuerpo y los depositan en tejidos periféricos. Como el VLDL se degrada, las lipoproteínas de baja densidad remanentes (LDL) se quedan en el torrente sanguíneo. Las lipoproteínas LDL son oxidativos y aterogénicos, asociado a un mayor riesgo de arterioesclerosis en la circulación coronaria y en la enfermedad vascular periférica. Las betalipoproteínas, tienen componente alto en proteínas y colesterol, pero bajo en triglicéridos. Resultados en ensayos clínicos aleatorios han demostrado un beneficio en la reducción de colesterol LDL a niveles por

debajo de 50 mg/dL. La terapia con estatinas logran una reducción significativa en los niveles de LDL. El VLDL es muy difícil de medir y, por tanto, se estima a través de cálculo. El colesterol LDL puede ser medido directamente, o puede ser calculado.

Consideraciones:

- El consumo de bebidas alcohólicas dentro de las 24 horas anteriores afectarán los resultados.
- Los resultados de las pruebas podrían ser elevados por una dieta rica en grasas saturadas y azúcar (como la mantequilla, crema, grasos carnes, tocino, y dulces).
- La ingesta de alimentos también puede alterar los valores de Colesterol LDL.
- El cálculo del Colesterol LDL se puede obtener también una vez obtenidos los valores de Colesterol Total, Colesterol HDL y Triglicéridos menor a 400 mg/dL , mediante la siguiente fórmula de Frewaldh :

Colesterol LDL = [Triglicéridos/5]+ HDL CHOL – Total CHOL

- Si el triglicéridos supera los 400 mg/dl aplicar la siguiente formula

Colesterol LDL = (HDL CHOL + 30) – Total CHOL

Además se puede reemplazar en la tabla de Excel, los datos necesarios para obtener el resultado de LDL colesterol.

5.6.17 CALCIO SÉRICO

Descripción:

Es un catión que ingresa a través de la dieta e interviene en la formación de hueso, transmisión del impulso nervioso, contracción del miocardio y músculos esqueléticos, y en la coagulación de la sangre mediante la conversión de protrombina a trombina. El calcio se almacena en los dientes y los huesos, y filtrada por los riñones, siendo reabsorbido cuando sus niveles séricos son normales. Para mantener un equilibrio normal de calcio y contrarrestar cualquier eliminación exagerada, por lo menos 1 gramo de calcio debe ser ingerido diariamente. Normalmente, el 50% del total de calcio es ionizado y la mayor parte del resto (40%) está vinculado a las proteínas. Sólo el calcio ionizado puede ser usado por el cuerpo (90%). El restante 10% forma complejos con aniones como bicarbonato y lactato y es biológicamente inactivo. Valores séricos totales de calcio aumentan y disminuyen directamente con los niveles de albúmina sérica, pero los niveles de calcio ionizado no lo hacen. Por cada disminución de la albúmina en 1 g/dL, el calcio sérico total disminuye en 0,8 mg/dL. Cuando la acidosis está presente, más calcio es ionizado. En alcalosis, la mayoría está ligada a proteínas y no pueden ser utilizadas por el cuerpo.

Condiciones pre analíticas del paciente:

- Ayuno de 8 horas (ideal en casos de pacientes estables, no así en casos de emergencia)
- Rechazar muestras hemolizadas
- Valores ***falsamente elevados*** pueden ser causados por hemólisis, deshidratación, e hiperproteinemia.
- Los valores ***falsamente disminuidos*** pueden ser causados por hipervolemia dilucional (administración intravenosa de cloruro de sodio).
- Los valores séricos de calcio deben ser corregidos respecto a los valores de albúmina sérica. Por cada gramo por debajo de 4 mg/dL, añadir 0,8 mg de calcio.
- La hipercalcemia puede inducir toxicidad de la digoxina y la disminución de la permeabilidad neuronal.
- Una alta ingesta de calcio reduce el riesgo de cáncer rectal en un 45%.

Muestra: Suero, plasma con heparina, orina 24 horas y orina simple.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de calcio sérico:

El método de química seca VITROS Ca se realiza utilizando los slides VITROS Ca y el VITROS Chemistry Products Calibrator Kit 01 en los Analizadores VITROS.

El slide VITROS Ca es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. El calcio unido a las proteínas se disocia, lo que le permite penetrar a través de la capa difusora hasta la capa reactiva subyacente. En ella, el calcio forma un complejo con el colorante Arsenazo III, lo que provoca un desplazamiento del máximo de absorción.

Después de la incubación, la densidad de reflexión del complejo coloreado se mide por espectrofotometría.

La cantidad de complejo coloreado formada es proporcional a la concentración de calcio en la muestra.

Secuencia de la reacción:

Ca^{+2} + Arsenazo III → pH 5,6 → complejo coloreado

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Colorimétrico.

- **Sistema Vitros** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350.
- **Tiempo aproximado de incubación** : 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 680 nm
- **Volumen de la muestra** : 10 µL
- **Linealidad** : 3.00 – 15.0 mg/dL
- **Valor referencial suero** : 8.40 – 10.2 mg/dL
- **Valor referencial orina** :
  - Límite crítico : 5.00 – 40.0 mg/24 horas
  - Bajo del promedio: 41.0 – 99.0 mg/24 horas
  - Nivel adecuado : 100.0 – 300.0 mg/24 horas
- **Calibración** : Kit 01
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.6.18 DESHIDROGENASA LACTICA (LDH)

Descripción:

Es una enzima intracelular se encuentran en casi todos los tejidos del cuerpo y se libera después de daño tisular. La mayor concentración se encuentra en órganos como el corazón, higado, riñones, músculo esquelético y células, así como los glóbulos rojos. Cuando tejido del organismo está dañado de trauma, isquemia, o desequilibrio ácido / base, LDH se libera en el torrente sanguíneo. Los resultados de este ensayo indican que el tejido se haya producido un daño, pero no puede identificar la ubicación específica del daño. Cuando la LDH total se eleva a más de 130 UI/L, se debe realizar la prueba de isoenzimas de lactato deshidrogenasa en sangre, para ubicar la fuente de daño tisular.

Condiciones pre analíticas del paciente:

- Ayuno de 8 horas (ideal en casos de pacientes estables, no así en casos de emergencia).
- Rechazar muestras hemolizadas, congeladas o refrigeradas. La hemólisis eleva la isoenzima LDH-1, lo cual incrementa el resultado del LDH total.
- La ***heparina*** aumenta en un tercio el valor de LDH en todos los pacientes que están siendo tratados con este fármaco.
- En pacientes con quemaduras la actividad del LDH en plasma es alta que en suero, posiblemente como resultado de ruptura de plaquetas.

- Se recomienda como factor pronóstico en pacientes con carcinoma colorrectal. Pacientes inicialmente con un nivel normal frente a aquellos que tengan un nivel anormal había mediana de supervivencia de 16 y 7 meses, respectivamente.
- Uso como factor pronóstico en el síndrome mielodisplásico; con niveles más altos están asociados con la supervivencia más corta.

Muestra:

- Suero (evitar el contacto prolongado de glóbulos rojos separados).

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de Deshidrogenasa láctica (DHL):

El método de química seca VITROS LDH se realiza utilizando los slides VITROS LDH y el Kit de Calibrador 03 VITROS de Bioquímica en los Analizadores VITROS.

El slide VITROS LDH es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. La lactato deshidrogenasa cataliza la conversión de piruvato y NADH en lactato y NAD+. La oxidación del NADH, que se monitoriza por espectrofotometría de reflectancia, se usa para medir la actividad de la enzima lactato deshidrogenasa.

Secuencia de la reacción

piruvato + NADH + H+ → (LDH) → lactato + NAD+

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Multifrecuencia.
- **Sistema Vitros** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350.
- **Tiempo aproximado de incubación** : 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 340 nm
- **Volumen de la muestra** : 11 µL
- **Linealidad** : 100 – 2150 U/L
- **Valor referencial suero** : 313 - 618 U/L
- **Calibración** : Kit 03
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.6.19 PROTEÍNAS TOTALES (TP)

Descripción:

Las proteínas se sintetizan en el hígado y el sistema reticuloendotelial constituyen más de 100 sustancias diferentes y se agrupan como albúmina y globulinas. Las proteínas séricas son esenciales para la regulación de la presión coloidosmótica y comprenden los factores de coagulación, de la hemostasia, enzimas, hormonas, factores de crecimiento y reparación tisular, reguladores de pH y buffers. Producen anticuerpos, transportadores de componentes sanguíneos (bilirrubina, calcio, lípidos, metales, oxígeno, esteroides, hormonas tiroideas y vitaminas), y son las preservadoras de los cromosomas.

Condiciones pre analíticas del paciente:

- Ayuno de 12 horas (ideal en casos de pacientes estables, no así en casos de emergencia).
- Rechazar muestras hemolizadas o turbidez por lipemias.
- Evitar la prolongada aplicación de un torniquete, que puede causar un aumento en las concentraciones de proteínas séricas.
- A los pacientes a los que se les aplicas solución IV, tomar la muestra por otra zona de venopunción ya que pueden disminuir los niveles de proteína por dilución (local).
- Valores falsamente elevados de proteínas totales se producen durante un máximo de 48 horas después de contraste con sulfobromoftaleína.
- Diálisis recientes distorsiona los valores obtenidos de proteínas.
- La hiperglucemia puede causar un incremento aparente en la concentración de proteínas totales.
- En suero los niveles de proteína total en pacientes en decúbito es menor de aproximadamente 0,3 g/dL más de lo previsto para la misma edad.

Muestra:

- Suero, líquidos y fluidos serosos.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de Proteínas totales

El método de química seca VITROS TP se realiza utilizando los slides VITROS TP y el Kit de calibrador 04 VITROS de Bioquímica en los Analizadores VITROS.

El slide VITROS TP es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster. El método de análisis se basa en la reacción de biuret en la cual las proteínas se tratan con un ión de cobre (Cu+2) en un medio alcalino para producir un complejo de color violeta.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. Cuando el líquido penetra la capa reactiva, el reactivo se difunde a la capa difusora y reacciona con la proteína.

La reacción entre la proteína y el tartrato de cobre se produce principalmente en la capa difusora en donde se concentra la proteína debido a su alto peso molecular.

La cantidad del compuesto coloreado formado es proporcional a la cantidad de proteínas totales en la muestra y se mide por espectrofotometría de reflectancia.

Secuencia de la reacción:

Proteína + tartrato de cobre → (LiOH) → complejo coloreado

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Colorimétrico.
- **Sistema Vitros** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350.
- **Tiempo aproximado de incubación** : 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 540 nm
- **Volumen de la muestra** : 10 µL
- **Linealidad** : 2.00 – 11.0 g/dL
- **Valor referencial suero** : 6.30 – 8.20 g/dL
- **Calibración** : Kit 04
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.6.20 ALBÚMINA SÉRICA (ALB)

Descripción:

Es una de las dos principales facciones de proteínas de la sangre. Funciona en el mantenimiento de la presión oncótica y en el transporte de bilirrubina, ácidos grasos, las drogas, hormonas y otras sustancias que son insolubles en agua. La proteina es normalmente reabsorbido casi en su totalidad por los riñones y no se detecta en la orina. Por lo tanto, la presencia de albúmina detectable, o proteínas, en la orina es indicativa de la función renal anormal.

Condiciones pre analíticas del paciente:

- Ayuno de 8 horas (ideal en casos de pacientes estables, no así en casos de emergencia)
- Los resultados no son válidos si la medición se realiza en plasma en lugar de suero.

- El paciente no debe haberse aplicado bromosulftaleina 2 días antes de la toma de muestra, debido a que esto invalida los resultados.
- Los valores son más altos cuando el paciente es ambulatorio o se encuentra en posición vertical y después de hemodiálisis causada por sobrecarga de líquidos.

Muestra:

- Suero.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de albúmina sérica

El método de química seca VITROS ALB se realiza utilizando los slides VITROS ALB y el Kit de Calibrador 4 VITROS de Bioquímica en los Analizadores VITROS.

El slide VITROS ALB es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. Al penetrar el líquido la capa reactiva, el verde de bromocresol (BCG) pasa a la capa difusora donde el colorante se une a la albúmina de la muestra. Esta unión da lugar a un desplazamiento de la longitud de onda del máximo de reflectancia del colorante libre. El complejo de color que se forma se lee por espectrofotometría de reflectancia. La cantidad de colorante unido a la albúmina es proporcional a la concentración de albúmina en la muestra.

Secuencia de la reacción:

albúmina + verde de bromocresol (BCG) → complejo BCG – albúmina

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Colorimétrico.
- **Sistema Vitros** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350.
- **Tiempo aproximado de incubación** : 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 630 nm
- **Volumen de la muestra** : 5.5 µL
- **Linealidad** : 1.00 – 6.00 g/dL
- **Valor referencial suero** : 3.50 – 5.00 g/dL
- **Calibración** : Kit 04
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.6.21 BILIRRUBINA TOTAL (TBIL)

Descripción:

La bilirrubina se produce en el hígado, bazo y médula ósea y es también un subproducto de la hemoglobina degradada. Los niveles de bilirrubina total se pueden desglosar en directa o conjugada (que se excreta principalmente a través del tracto intestinal), e indirecta o no conjugada (circula principalmente en el torrente sanguíneo). Los niveles de bilirrubina total aumentan con cualquier tipo de ictericia, mientras que los directos e indirectos aumentan los niveles dependiendo de la causa de la ictericia. Bilirrubina directa (conjugada) es parte de la bilirrubina que normalmente se excreta principalmente por el tracto gastrointestinal y sólo pequeñas cantidades entran en el torrente sanguíneo. Cuando ocurre una obstrucción de vías biliares (intra o extrahepática) o ictericia, el aumento de las cantidades de bilirrubina conjugada entran en el torrente sanguíneo, en lugar del tracto gastrointestinal, siendo filtradas y luego excretadas por los riñones. La bilirrubina indirecta (libre o cribado de bilirrubina) es la parte de la bilirrubina que circula normalmente en el torrente sanguíneo. Cuando se produce la ictericia hemolítica, la bilirrubina indirecta se acumula en el torrente sanguíneo como resultado de una mayor degradación de hemoglobina. No hay ninguna prueba directa de laboratorio para la bilirrubina indirecta, sino que es un cálculo de la bilirrubina total, menos la bilirrubina directa.

Condiciones pre analíticas del paciente:

- Ayuno de 8 horas (ideal en casos de pacientes estables, no así en casos de emergencia).
- Descartar muestras hemolizadas o lipémicas.
- Los resultados se invalidan si el paciente recibió sustancias radiactivas de exploración 24 horas antes de la toma de muestra.
- Valores obtenidos de la sangre del cordón umbilical pueden ser elevados.
- Los medicamentos que pueden causar incrementos falsos incluyen acetazolamida, andrógenos, clordiazepóxido, clorpromazina, eritromicina, indometacina, isoniazida, metanol, nitrofurantoína, oxacilina sódica, fenotiazinas, fenilbutazona, sulfinpirazona salicilatos, sulfonilureas, sulfonamidas, y vitamina A.
- La bilirrubina es fotosensible. En muestras expuestas a la luz solar directa por una hora, se ha encontrado una disminución del 30% de la bilirrubina.
- Los sueros deben ser conservados en la oscuridad y a baja temperatura, para obtener una estabilidad máxima.

- Los niveles de bilirrubina indirecta podría ser más frecuente elevados en la enfermedad hemolítica del recién nacido (>20 mg/dL).

Muestra:

- Suero, plasma con EDTA.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de Bilirrubina total

El método de química seca VITROS TBIL se realiza utilizando los slides VITROS TBIL y el Kit de calibrador 4 VITROS de Bioquímica en los Analizadores VITROS.

El slide VITROS TBIL es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster. El análisis se basa en una modificación de la clásica reacción diazo.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. Esta capa proporciona un fondo reflectante para medir los productos diazo de la bilirrubina y contiene todos los reactivos necesarios para determinar la bilirrubina total.

El método utiliza difilina para disociar la bilirrubina no conjugada de la albúmina. La bilirrubina no conjugada, la bilirrubina conjugada y la bilirrubina vinculada a la albúmina (delta) reaccionan posteriormente con la sal diazónica hexafluorofosfato de4-(*N*-carboximetilsulfamil) bencenodiazonio para producir cromóforos de azobilirrubina que tienen una absortividad molar similar y máximos de absorbancia alrededor de 520 nm.

La concentración de bilirrubina total se determina midiendo los cromóforos de azobilirrubina en dos longitudes de onda que pasan a través del soporte transparente. La medida de la reflectancia en 460 nm corrige las interferencias espectrales.

Secuencia de la reacción:

bilirrubina total → (difilina) → cromóforos de azobilirrubina

(Bu, Bc y DELB) hexafluorofosfato de [4-(*N*-carboximetilsulfamil) bencenodiazonio]

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Colorimétrico.
- **Sistema Vitros** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350.
- **Tiempo aproximado de incubación** : 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 540 y 460 nm
- **Volumen de la muestra** : 10 µL

- **Linealidad** : 0.10 – 27.0 mg/dL
- **Valor referencial suero** : 0.20 – 1.30 mg/dL
- **Calibración** : Kit 04
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.6.22 BILIRRUBINA INDIRECTA (BU – BC)

Muestra: Suero, plasma heparinizada y con EDTA.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de Bilirrubina indirecta

El método de química seca VITROS Bu-Bc se realiza utilizando los slides VITROS Bu-Bc y el Kit de Calibrador 4 VITROS de Bioquímica en los Analizadores VITROS.

El slide VITROS Bu-Bc es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. Gracias a la acción de la cafeína y del benzoato de sodio existentes en la capa difusora, la Bu se disocia de la albúmina y migra junto con la Bc a través de la capa protectora hasta llegar a la capa reactiva. Las proteínas (incluida la delta bilirrubina unida a albúmina y la hemoglobina), así como los lípidos y los lipocromos se retienen en la capa difusora. La capa protectora bloquea ópticamente los compuestos con potencial de interferencia atrapados en la capa difusora, evitando así que se puedan determinar.

En la capa reactiva, Bu y Bc se unen a un mordiente catiónico. A consecuencia de esto, se produce la desviación de los picos de absorbancia de las fracciones de bilirrubina, aumentando significativamente los coeficientes de extinción molar.

Cuando los monoglucurónidos y los diglucurónidos de la bilirrubina se unen al mordiente tienen espectros idénticos y se cuantifican conjuntamente como Bc. En las proximidades de 400 a 420 nm, Bu y Bc presentan valores de absortividad molar similares; a 460 nm, la absortividad molar de Bu es mayor que la de Bc. Debido a estas características espectrales únicas, se utilizan las densidades de la reflectancia a dos longitudes de onda, 400 y 460 nm, para determinar las concentraciones de Bu y Bc.

La **bilirrubina directa** en química seca se obtiene de la diferencia entre Bilirrubina Total y la Bilirrubina indirecta (Bu).

Secuencia de la reacción:

complejos de bilirrubina → bilirrubina (Bu + Bc)

bilirrubina + mordiente → complejo de bilirrubina – mordiente

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Colorimétrico de punto final (doble longitud de onda).
- **Sistema Vitros** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350.
- **Tiempo aproximado de incubación** : 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 400 y 460 nm
- **Volumen de la muestra** : 11 µL
- **Linealidad** : 0.10 – 27.0 mg/dL
- **Valor referencial suero** : 0.01 – 1.10 mg/dL
- **Calibración** : Kit 04
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.6.23 ÁCIDO ÚRICO

Descripción:

El ácido úrico se forma por el metabolismo continuo de las purinas (adenina y guanina) durante la formación y la degradación de ácido ribonucleico (ARN) y ácido desoxirribonucleico (ADN) así como del metabolismo de las purinas dietéticas. Después de su síntesis en el hígado provocada por la acción de la xantina oxidasa, una parte del ácido úrico se excreta en la orina. Cantidades elevadas de ácido úrico en suero (uricemia) se depositan en las articulaciones y tejidos blandos y causar gota, una respuesta inflamatoria frente a la deposición de cristales de uratos. Cuando se da un rápido recambio celular y se reduce la excreción renal de ácido úrico puede ocasionar uricemia. Elevadas cantidades de ácido úrico precipitado en orina forman cálculos de uratos en los riñones.

Condiciones pre analíticas del paciente:

- Ayuno de 6 horas.
- Los medicamentos que pueden causar resultados falsamente elevados son la aminofilina, cafeína y vitamina C.
- El cambio de una dieta normal por una baja en purinas puede disminuir potencialmente en orina los niveles de ácido úrico hasta la mitad.
- La mortalidad en mujeres con cardiopatía isquémica aumenta cinco veces si su nivel de ácido úrico es mayor o igual a 7 mg/dL.

- Alimentos ricos en purinas que pueden contribuir a gota incluyen la cafeína que contienen las bebidas, legumbres, setas, carnes de órganos, espinacas, salsas, y panadería y levadura de cerveza.

Muestra:

- Suero, plasma con heparina de litio, orina simple y de recolección de 24 horas.
- Para colectar la muestra de orina de 24h, seguir los siguientes pasos:
  - Disponer de un recipiente de 03 Litros de capacidad y agregar 10 mL (12,5 M) de solución de hidróxido de sodio.
  - Anotar la hora en que se inicia y termina la recolección de la muestra.
  - Remitir al laboratorio

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de ácido úrico

El método de química seca VITROS URIC se realiza utilizando los slides VITROS URIC y el Kit de Calibrador 01 VITROS de Bioquímica en los Analizadores VITROS.

El slide VITROS URIC es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster. El método es similar a los descritos por Kageyamay Trivedi et al.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. El ácido úrico de la muestra se desplaza a la capa reactiva donde es oxidado en presencia de uricasa para formar alantoina y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno oxida un leucoderivado en presencia de peroxidasa para generar un pigmento coloreado. La densidad de reflexión del colorante se mide por espectrofotometría de reflectancia.

Secuencia de la reacción:

$2H_2O$ + ácido úrico → (uricasa) → alantoina + H_2O_2 + CO_2

H_2O_2 + leucoderivado → (peroxidasa) → pigmento + $2H_2O$

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Colorimétrico.
- **Sistema Vitros** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350.
- **Tiempo aproximado de incubación** : 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 670 nm
- **Volumen de la muestra** : 10 µL

- **Linealidad en suero** : 0.50 – 17.0 mg/dL
- **Linealidad en orina** : 5.50 – 187.0 mg/dL
- **Valor referencial suero** :
  - **Varones** : 3.50 – 8.50 mg/dL
  - **Mujeres** : 2.50 – 6.00 mg/dL
- **Valor referencial orina** : 250 – 750 mg/24h
- **Calibración** : Kit 01
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.6.24 FÓSFORO

Descripción:

El fósforo se encuentra en el organismo formando parte de compuestos orgánicos (proteínas, lípidos, carbohidratos, ácidos nucleicos, etc.) o como fosfatos inorgánicos, cumpliendo diversas funciones (transporte de energía, estructura de los tejidos, mantenimiento del pH de los líquidos corporales). Los tejidos óseo y muscular lo contienen como constituyente esencial y es notable su participación en la composición del tejido nervioso.

Su concentración en circulación está regulada entre otros factores por los niveles de vitamina D y las glándulas endócrinas, observándose variaciones fisiológicas de acuerdo a la edad, ingesta, actividad física, embarazo, etc.

Existen situaciones patológicas en las que se altera este equilibrio, produciéndose anormalidades en la concentración de fósforo circulante.

Niveles elevados de fósforo sérico son encontrados en el hipoparatiroidismo, mientras que el hiperparatiroidismo conduce a la situación contraria. También puede encontrarse hiperfosfatemia por hipervitaminosis D y diversos trastornos renales, mientras que la hipofosfatemia se relaciona con deficiencias de vitamina D y defectos en la reabsorción de fósforo a nivel renal.

Condiciones pre analíticas del paciente:

- Ayuno de 6 horas.
- El suero y el plasma deben ser separados de los glóbulos rojos inmediatamente.
- No se observan interferencias por bilirrubina hasta 58 mg/L.
- La hemólisis o lipemia son causa de resultados erróneos.

- Se recomienda procesar un blanco de muestras para evitar estas interferencias.

Muestra:

- Suero, plasma con heparina de litio, orina simple y de recolección de 24 horas.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de fósforo

El método de química seca VITROS PHOS Slide se realiza utilizando los VITROS PHOS Slides y el VITROS Chemistry Products Calibrator Kit 01 en los VITROS Chemistry Systems.

VITROS PHOS Slide es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster. El análisis se basa en la reacción del fosfato inorgánico con molibdato de amonio para formar un complejo de fosfomolibdato de amonio a pH ácido, tal como describen Fiske y Subbarow. El sulfato de *p*-metilaminofenol, un reductor orgánico descrito por Gomori, reduce el complejo formándose un cromóforo azul de heteropolimolibdeno estable.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. El fósforo de la muestra forma un complejo con el molibdato de amonio. Este complejo es reducido por el sulfato de *p*-metilaminofenol dando un complejo azul.

La concentración de fósforo en la muestra se determina midiendo el complejo de heteromolibdeno azul por espectrofotometría de reflectancia.

Secuencia de la reacción:

fosfato inorgánico + molibdato de amonio → pH 4,2 → complejo de fosfomolibdato de amonio

complejo de fosfomolibdato de amonio → sulfato de heteropolimolibdeno azul → *p*-metilaminofenol

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Colorimétrico.
- **Sistema Vitros** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350.
- **Tiempo aproximado de incubación** : 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 670 / 680 nm
- **Volumen de la muestra** : 10 µL
- **Linealidad en suero** : 0.50 – 13.0 mg/dL
- **Valor referencial suero** : 2.50 – 4.50 mg/dL
- **Valor referencial orina** : 300 – 800 mg/24 horas

- **Calibración** : Kit 01
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.6.25 MAGNESIO

Descripción:

El magnesio es predominantemente un catión intracelular esencial en las reacciones enzimáticas. La deficiencia de magnesio puede provocar debilidad, temblores, tetania y convulsiones. La hipomagnesemia se asocia a hipocalcemia, alcoholismo, algunos tipos de desnutrición, mala absorción, hemodiálisis crónica y embarazo. Las concentraciones aumentadas de magnesio sérico se producen en pacientes con insuficiencia renal, deshidratación y la enfermedad de Addison.

Condiciones pre analíticas del paciente:

- Ayuno de 6 horas.
- Las muestras hemolizadas pueden dar lugar a resultados falsamente elevados debido a las concentraciones de magnesio Intracelular.
- Centrifugue las muestras y retire el suero o plasma del material celular o más pronto posible después de su extracción.
- Para la recogida y la dilución de la muestra de orina utilice recipientes exentos de metal.
- Al superar la linealidad o rango de reacción se recomienda diluir las muestras al 2.00 y el resultado multiplicar por 2.

Muestra:

- Suero, plasma con heparina de litio, orina simple y de recolección de 24 horas.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de magnesio

El método de química seca VITROS Mg se realiza utilizando los slides VITROS Mg y el VITROS Chemistry Products Calibrator Kit 01 en los Analizadores VITROS.

El slide VITROS Mg es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. El magnesio (libre y unido a proteínas) de la muestra reacciona entonces con el colorante formazán que se encuentra en la capa reactiva; la elevada afinidad del colorante por el magnesio disocia a éste de la unión a proteínas. El complejo magnesio-colorante resultante provoca un desplazamiento en el máximo de absorción del

colorante. La cantidad de complejo colorante formado es proporcional a la concentración de magnesio presente en la muestra y se determina mediante densidad de reflexión.

Secuencia de la reacción:

$Mg_2 + Ca^{+2}$ → (quelante) → $Mg^{+2} + Ca^{+2}$-complejo quelante

Mg^{+2} + colorante formazán → (pH 9,75) → Mg^{+2}-complejo colorante

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Colorimétrico.
- **Sistema Vitros** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350.
- **Tiempo aproximado de incubación** : 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 630 nm
- **Volumen de la muestra** : 5.0 µL
- **Linealidad en suero** : 0.20 – 10.0 mg/dL
- **Valor referencial suero** : 1.60 – 2.30 mg/dL
- **Valor referencial orina** : 50.0 – 150.0 mg/24 horas
- **Calibración** : Kit 01
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.6.26 PCR CUANTITATIVO

Descripción:

La proteina C reactiva se sintetiza en el hígado y es una de las proteínas de fase aguda. En la respuesta de fase aguda se observa un aumento en las concentraciones de varias proteínas plasmáticas, entre ellas la CRP.

Las determinaciones de la concentración de CRP resultan útiles en la detección y evaluación de los trastornos inflamatorios, las lesiones tisulares y las infecciones.

Condiciones pre analíticas del paciente:

- Se ha descrito que ciertos dispositivos de recogida de muestras pueden afectar a algunos ensayos y analitos. Confirme que los dispositivos de recogida utilizados son compatibles con este ensayo.

Muestras recomendadas:

- Suero, plasma con EDTA y heparina de litio.

Muestras no recomendadas:

- Plasma citratado o con oxalato de fluoruro.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de PCR Cuantitativa

El método de química seca VITROS CRP se realiza utilizando los slides VITROS CRP y el Kit de calibrador 07 VITROS de Bioquímica en los Analizadores VITROS.

El slide VITROS CRP es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster. El formato de inmunofrecuencia de CRP se basa en un formato de inmunoensayo enzimático heterogéneo en "sandwich". En este formato, un derivado de la fosforilcolina (PC) se une covalentemente a perlas poliméricas de poliestireno y en presencia de calcio actúa como agente de captura. El anticuerpo monoclonal anti-CRP conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP) actúa como generador de señal.En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. La CRP de la muestra se une a las perlas de captura vinculadas a la PC y al anticuerpo anti-CRP marcado con peroxidasa de rábano picante para formar un complejo insoluble en forma de "sandwich" en la incubación 1. La posterior adición al slide de 12 µl de Líquido de inmunolavado VITROS elimina los materiales no fijados del área de lectura, a la vez que proporciona el peróxido de hidrógeno necesario para la oxidación del leucoderivado mediada por la enzima.

La densidad de reflexión del colorante se mide después de la adición del Líquido de inmunolavado VITROS al final de la incubación 2. Esta densidad de reflexión es directamente proporcional a la concentración de CRP en la muestra. Para determinar si el lavado ha sido adecuado, el colorante de detección de lavado se lee en 670 nm inmediatamente después de la incubación 2.

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Inmunofrecuencia a punto final.
- **Sistema Vitros** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350.
- **Tiempo aproximado de incubación** : 2.5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 670 nm
- **Volumen de la muestra** : 11.0 µL
- **Linealidad en suero** : 1.00 – 110.0 mg/L
- **Valor referencial suero** : < 1.00 mg/L
- **Calibración** : Kit 07

- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

Para tener una mayor linealidad se recomienda hacer una dilución previa de la muestras al 1/3 por defecto y el equipo de química seca, calcula el resultado final.

5.6.27 PROTEINAS EN ORINA

Descripción:

Una cantidad de proteínas plasmáticas de pequeño peso molecular son filtradas normalmente en forma libre a través del glomérulo renal y luego son, en parte, reabsorbidas por los túbulos renales. Hay condiciones fisiológicas o benignas donde se puede observar un aumento en la excreción urinaria de proteínas como en el ejercicio violento, fiebre, hipotermia, embarazo.

La medición de las proteínas urinarias es importante en la detección de patología renal. La proteinuria en la enfermedad renal puede resultar de una disfunción glomerular o tubular. En el primer caso se da por un aumento en el pasaje a través de los capilares del glomérulo y caracterizada por la pérdida de proteínas plasmáticas de igual o mayor tamaño. En el segundo caso se da por una disminución en la capacidad de reabsorción de proteínas por los túbulos.

Entre las patologías en las que se produce un aumento en la excreción de proteínas urinarias se encuentran: síndrome nefrítico, síndrome nefrótico, hipergammaglobulinemia monoclonal, nefropatía diabética, infecciones del tracto urinario.

Muestra: Orina simple o de recolección de 12 ó 24 horas. En todos estos casos, se debe centrifugar la muestra.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de proteínas en orina:

El método de química seca VITROS UPRO se realiza utilizando los slides VITROS UPRO y el VITROS Chemistry Products Calibrator Kit 10 en los analizadores VITROS 250/350/950/5,1 FS y 4600 de Bioquímica y el VITROS 5600 Integrated System. El slide VITROS UPRO es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. La unión de las proteínas a un complejo de violeta de pirocatecol-molibdato en presencia de oxalato produce un desplazamiento del máximo de absorción desde 450 hasta 670 nm.

Después de un período de incubación predeterminado, la densidad de la reflectancia del colorante se determina espectrofotométricamente. La

cantidad de complejo coloreado es proporcional a la concentración de proteínas en la muestra.

Preparación del reactivo:

El cartucho de slide debe alcanzar la temperatura ambiente, 18 – 28ºC, antes de extraerlo de su envase y cargarlo en el tambor de reactivos. Con el cartucho aún en el envoltorio, esperar a que alcance la temperatura ambiente (30 minutos si estaba en un refrigerador, o 60 minutos si estaba en un congelador). Desenvolver el cartucho y cargarlo en el tambor de reactivos.

Nota: Cargue los cartuchos dentro de las 24 horas siguientes a alcanzar la temperatura ambiente, 18 – 28ºC.

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Colorimétrico.
- **Sistema Vitros** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350.
- **Tiempo aproximado de incubación** : 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 450 – 670 nm
- **Volumen de la muestra** : 11.0 µL
- **Linealidad en orina** : 3.00 – 500.0 mg/dL
- **Valor referencial orina** :
  - **Simple** : < 12.0 mg/dL
  - **24 horas** : 42.0 – 225.0 mg/dL
- **Calibración** : Kit 25
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.6.28 PROTEÍNAS EN LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

Descripción:

Las proteínas del líquido cefalorraquídeo (LCR) son aquellas que permanecen en el LCR después de la ultrafiltración del plasma a través de la pared capilar coroidal. Algunas proteínas que son exclusivas del LCR se sintetizan en el sistema nervioso central. En general, las enfermedades que rompen la integridad de la barrera endotelial capilar producen un aumento de las proteínas totales en el LCR. Las proteínas del LCR están generalmente aumentadas en todos los tipos de meningitis, infarto cerebral, absceso cerebral, sífilis meningovascular, hemorragia subaracnoidea, algunos tumores cerebrales, traumatismo cerebral, algunos casos de esclerosis múltiple, encefalomielitis y

enfermedades neurológicas degenerativas. Las proteínas del LCR pueden estar reducidas en caso de intoxicación hídrica, pérdida de LCR (rinorrea u otorrea) y en el hipertiroidismo.

La determinación de proteínas en LCR es útil para evaluar la permeabilidad de la barrera hematoencefálica en muchos casos clínicos inflamatorios o infecciosos del SNC. Otros desórdenes ocasionan una producción anormal de proteínas dentro del SNC como las enfermedades desmielinizantes.

La sensibilidad del presente método lo hace apropiado para ser usado en líquido cefalorraquídeo donde la concentración de proteínas con respecto a la del plasma es demasiado baja como para determinarla por métodos empleados habitualmente para suero.

Muestra: Líquido Cefalorraquídeo. En caso de que las muestras sean turbias deberán ser centrifugadas.

Principios del procedimiento de química seca para el dosaje de proteínas en líquido cefalorraquídeo:

El método de química seca VITROS PROT se realiza utilizando los slides VITROS PROT y el VITROS Chemistry Products Calibrator Kit 5 en los analizadores VITROS 250/350/950/5,1 FS y 4600 de Bioquímica y el VITROS 5600 Integrated System.

El slide VITROS PROT es un elemento analítico multicapa incorporado a un soporte de poliéster. El análisis está basado en una modificación de la reacción del biuret.

En el slide se deposita una gota de muestra del paciente, que se distribuye uniformemente desde la capa difusora a las capas subyacentes. Las proteínas de la muestra forman un complejo con el ión cúprico y se produce la disociación del ión cúprico del complejo colorante cobre–azo. La reducción del complejo colorante cobre–azo se mide por espectrofotometría de reflectancia y es proporcional a la concentración de proteínas en la muestra.

Preparación del reactivo:

El cartucho de slide debe alcanzar la temperatura ambiente, 18 – 28°C, antes de extraerlo de su envase y cargarlo en el tambor de reactivos. Con el cartucho aún en el envoltorio, esperar a que alcance la temperatura ambiente (30 minutos si estaba en un refrigerador, o 60 minutos si estaba en un congelador). Desenvolver el cartucho y cargarlo en el tambor de reactivos.

Nota: Cargue los cartuchos dentro de las 24 horas siguientes a alcanzar la temperatura ambiente, 18 – 28°C.

Tipo y condiciones del ensayo:

- **Tipo de ensayo** : Colorimétrico.

- **Sistema Vitros** : 5,1 FS, 950, 750, 550, 250, 350.
- **Tiempo aproximado de incubación** : 5 minutos.
- **Temperatura** : 37°C.
- **Longitud de onda** : 540 nm
- **Volumen de la muestra** : 10 µL
- **Linealidad** : 2.00 – 250.0 mg/dL
- **Valor referencial** : 12.0 – 60.0 mg/dL
- **Calibración** : Kit 04
- **Control de calidad** : CCI, CCE, CC Interlaboratorial.

5.7 DETERMINACIÓN DE ANALITOS BIOQUÍMICOS POR QUÍMICA LÍQUIDA

5.7.1 TEST DE ADA O ADENOSINA DEAMINASA

Descripción:

La adenosina desaminasa (ADA) es una enzima esencial en el metabolismo de las purinas, con un papel especialmente importante en la diferenciación y proliferación de linfocitos T y del sistema monocito-macrófago. Se han identificado dos tipos de ADA: ADA sérica, que se encuentra en hematíes, linfocitos, suero y en pequeñas cantidades en hígado y bazo; y ADA tisular, que está en los homogeneizados de todos los tejidos del organismo. El déficit congénito de ADA motiva el síndrome de inmunodeficiencia grave combinada, caracterizado por ausencia de linfocitos T e hipogammaglobulinemia.

Durante las primeras fases de la diferenciación del linfocito T las concentraciones intracelulares de ADA aumentan en cien veces su valor inicial, lo que ha llevado a proponer la determinación de ADA como una prueba de inmunidad celular, al ser ésta críticamente dependiente de la presencia de una adecuada actividad de ADA. Se ha observado un aumento de su actividad enzimática sérica en la fase aguda de algunas infecciones intracelulares. En líquidos biológicos, la determinación de la actividad de ADA se utiliza como marcador diagnóstico de la tuberculosis, seguimiento y descarte de exudados y trasudados.

Condiciones pre analíticas del paciente:

- Ayuno de 8 horas para el caso de ADA sérico (ideal en casos de pacientes estables, no así en casos de emergencia).
- Las muestras a procesar deben ser de reciente extracción.
- En caso de no poder procesarlas inmediatamente, refrigerar la muestra y proceder a su lectura no más de 24 horas de recibida.

Procesamiento:

Tomar una muestra del líquido corporal solicitado (según sea el caso) y realizar según metodología empleada (ver inserto del reactivo).

Determinación del test de ADA:

- **Método:** Enzimatico-colorimétrico 2 puntos.

Secuencia de la reacción:

Adenosina + H_2O → (ADA) → Inosina + NH_3

Inosina + Pi → (PNP) → Hipoxantina + ribosa-1-fosfato

Hipoxantina + $2H_2O$ + O_2 → (Xantina oxidasa) → Ácido úrico y $2H_2O_2$

H_2O_2 + EHSPT + 4AA → (Peroxidasa) → Quinona de color y H_2O.

Muestra: Suero, fluidos y líquidos corporales.

Equipos y Materiales:

- MicroLab 300
- Micropipetas de 5 uL, 500 uL
- Tubos de 13 x 100
- Baño maria a 37°C
- Timer

Reactivos:

- **Reactivo 1:** Solución de enzimas PNP, XOD, POD y sus estabilizantes.
- **Reactivo 2:** Solución de adenosina en buffer tris HCL 50 mmol/L.
- **Calibrador de ADA**: Según el lote, cambia la concentración en U/L.
- **Controles de calidad:**
  - Solución Nivel 1.
  - Solución Nivel 2.

Procedimiento:

	Blanco Reactivo	Calibrador	Muestra
Reactivo 1	400 uL	400 uL	400uL
Calibrador		10 uL	----

Muestra	----	----	10 uL
Agua destilada	10 uL	---	-----

Mezclar e incubar 3 minutos a 37°C.

Reactivo 2	400 uL	400 uL	400 uL
Mezclar, leer en:	Microlab 300	De inmediato	Por 8 minutos

Obteniéndose directamente los valores de ADA en U/L, programados previamente en el equipo.

Cálculos probables:

$$\text{Actividad ADA (U/L)} = \frac{\text{Abs delta de la muestra}}{\text{Abs delta del calibrador}} \times [\text{ Calibrador }]$$

Otras consideraciones:

- Esta prueba es de una alta sensibilidad para el estudio de la tuberculosis pero carece de especificidad para dar un diagnóstico de certeza de esta enfermedad.
- Una prueba de ADA positiva con el punto de corte señalado indica una probabilidad muy alta de que estemos realmente ante un caso de tuberculosis. Sin embargo, una prueba negativa no es tan concluyente, es decir, nuestra probabilidad de tener resultados falsos negativos debe tomarse en cuenta, pero nuestra probabilidad de tener resultados falsos positivos es muy baja.

Valores de referencia:

a. LCR : 0 - 9 U/L

b. Liquido Pleural : 0 - 30 U /L

c. Liquido Ascitico : 0 - 40 U/L

d. Liquido Sinovial : 0 - 45 U/L

e. Liquido Pericárdico : 0 - 40 U /L

f. Suero : 0 - 15 U/L

Rango de linealidad: Hasta 200 U/L.

5.8 DETERMINACIÓN DE ANALITOS POR POINT OF CARE TESTING

5.8.1 HEMOGLUCOTEST

Las tiras reactivas están destinadas para la medición semicuantitativa de glucosa en sangre capilar, obtenida del pulpejo del dedo, y neonatales con un 99.5% de veracidad y especificidad. La maltosa, la galactosa en concentraciones moderadas ***no interfieren*** en la prueba.

Fundamento de la prueba:

La enzima de la tira reactiva (glucosa deshidrogenasa) convierte a la molécula de la glucosa en gluconolactona. Esta reacción de corriente eléctrica es directamente proporcional a su concentración que se visualiza en el monitor del equipo portátil.

Contenido del Pack o envase:

- Chip negro equivalente al código de lote.
- Frasco con 25 ó 50 tiras reactivas y su literatura adjunta.
- Calibrador provisto por la casa proveedora.
- Control de calidad a cargo de la casa proveedora.
- Rango de linealidad: 10 - 600 mg/dL.

Procedimiento:

- Previa asepsia de la zona de punción, pinchar con una lanceta y obtener una gota de sangre (aproximadamente 20 uL).
- Roce el borde delantero de la tira insertada al glucómetro y al cabo de 5 segundos se obtiene el resultado digital.

Resultados:

- Los valores referenciales en ***adultos sin diabetes*** van desde 74 a 106 mg/dL, en cambio, para ***diabéticos*** el rango adecuado es ***unipersonal***.
- Los resultados no esperados como **LO** (hipoglucemia menor a 10 mg/dL) y **HI** (hiperglucemia, mayor a 600 mg/dL), en este caso reportar menor a 10 mg y mayor a 600 mg/dl respectivamente.

Recomendaciones:

1. Cerrar el tubo de tiras reactivas herméticamente e inmediatamente después de retirar una tira para proteger de la humedad u oxígeno ambiental.
2. Usar el glucómetro con el chip codificador de color negro, desechar las demás colores.
3. En caso de valores altos de maltosa y galactosemia se sugiere comprobar los resultados por métodos convencionales.
4. Las glicemias procesadas a partir de sangre venosa y arterial medirlas antes que pasen los 30 minutos de obtenida las muestras.

5. No usar este método rápido en pacientes con deshidratación, con cetoacidosis diabética, hipotensión, shock, insuficiencia cardiaca.

5.8.2 PRUEBA DE EMBARAZO CUALITATIVA

Descripción:

La gonadotropina coriónica humana (βHCG) es una hormona glicoproteica con subunidades, alfa y beta que normalmente se producen por la placenta en desarrollo.

Esta prueba puede detectar el embarazo en tan solo 1 semana después de la concepción. La monitorización seriada se utiliza para ayudar a determinar la edad gestacional. La subunidad beta se utiliza a menudo para seguir el estado de los tumores después de la cirugía o la quimioterapia. Niveles elevados se han asociado a un mal pronóstico en pacientes con cáncer colorrectal.

Condiciones pre analíticas del paciente:

- Ayuno de 8 horas (ideal en casos de pacientes estables, no así en casos de emergencia).

Muestra:

- Suero libre de hemólisis.

Observaciones:

- Resultados falso positivo se pueden obtener con muestras séricas hemolizadas, lipémicas, o ictéricas, y provenientes de quiste pericárdico.
- El EDTA, la heparina y otros anticoagulantes producen una disminución en los niveles plasmáticos y puede provocar resultados falsos negativos.
- Los valores aumentan más lentamente en embarazos ectópicos que en embarazos normales.

Caracteristicas del test:

- Tomar una muestra de sangre de 4 mL y realizar prueba según metodología empleada (ver inserto del reactivo).
- El casete de HCG es un inmunoensayo rápido del tipo cromatográfico para la detección cualitativa de gonadotrofina coriónica humana en sangre para ayuda diagnostica temprana del embarazo. La prueba utiliza dos líneas para indicar la calidad de los resultados.
- La línea de reacción utiliza una combinación de anticuerpos monoclonales para detectar selectivamente niveles elevados de

antígeno HCG. La muestra migra por capilaridad a lo largo de la membrana para reaccionar con el conjugado de color.

- Las muestras positivas reaccionan con el anticuerpo específico y con el conjugado HCG dando un color a la línea de reacción.
- Las muestras negativas, muestran ausencia de color en la línea de reacción.
- La línea de control se compone de anticuerpos policlonales de cabra y partículas de oro coloidal que siempre aparecerá coloreada indicando que el proceso en su integridad a sido correcto, de lo contrario invalida la prueba.

Materiales: Gradilla, gotero, reactivo de HCG cualitativo conservado de 2 – 30°C, Timer.

Procedimiento:

- Ubicar los pocillos para el test en un lugar apropiado (superficie de color blanco). Dispensar 100 uL ó 03 gotas de muestra sérica.
- Incubar a temperatura ambiente por 5 minutos y leer.
- Visualizar el resultado obtenido.

Interpretación de resultados:

- Positivo : Dos bandas nítidas o débiles.
- Negativo : Una banda.

Sensibilidad: Valores positivos por encima de 20 mIU/ml.

Consideraciones:

- No se elimina la posibilidad de embarazo si los resultados son bajos o dudosos por lo tanto es un diagnostico presuntivo, cuya confirmación sería por CLIA o ELISA para βHCG.
- Resultados falsos positivos han dado lugar a tratamientos innecesarios con quimioterapia por la sospecha de malignidad.
- Uno puede confirmar o descartar pruebas positivas βHCG mediante una prueba cuantitativa en orina.
- Los falsos positivos pueden ser por enfermedades trofoblásticas y no trofoblasticas, tumores testiculares, cáncer de próstata, de mama, de pulmón, entre otros.

Control de calidad:

- El control de calidad interno está incluido en el casete conocido como línea de control, de procedimiento positivo indicando que el volumen y el procedimiento son correctos.

- Se recomienda el uso de un control positivo que contenga 25 – 250 mUI/mL y un control negativo de βHCG, que contenga "0" mUI/mL de βHCG para verificar el comportamiento de la prueba cuando se realice cambio de lote.

6 RESPONSABILIDADES

El Hospital de Emergencias José Casimiro Ulloa, a través de su Director, es el responsable de autorizar la elaboración, revisión y actualización del presente manual, de acuerdo a las normas técnicas emanadas por el Ministerio de Salud como ente rector.

La Jefatura del Departamento de Patologia Clinica es responsable de autorizar, proporcionar los recursos necesarios y designar al personal responsable para la aplicación de las disposiciones contenidas en el presente manual.

La Jefatura del Servicio de Bioquímica da las pautas para un adecuado funcionamiento del servicio de Bioquímica. Asimismo, se encargará de vigilar y hacer cumplir el presente Manual de Normas y Procedimientos.

Son responsables de dar cumplimiento al presente Manual, todo el personal asignado en el servicio de Bioquímica que incluye al personal profesional, técnico y auxiliar.

ANEXOS

ANEXO 1. VALORES REFERENCIALES DE ANALITOS BIOQUIMICOS EN VITROS 350

ANALITO	HOMBRE	MUJER	UNIDAD MEDIDA
Ácido úrico	3.5 - 8.5	2.0 – 6.2	**mg/dL**
Albúmina	3.5 – 4.8	3.5 – 4.8	**g/Dl**
Amilasa	30 - 110	30 – 110	**U/L**
Bilirrubina Indirecta	Hasta 0.90	Hasta 0.90	**mg/dL**
Bilirrubina Total	Hasta 1.30	Hasta 1.3	**mg/dL**
Calcio	8.5 – 10.2	8.5 – 10.2	**mg/dL**
Calcio (orina)	110 – 300	100 – 300	**mg/24 hs.**
CK – NAC	55 – 170	30 – 135	**U/L**
CK – MB	0 - 25	0 – 25	**U/L**
Colesterol Total	Hasta 200	Hasta 200	**mg/dL**
Colesterol HDL	40 – 60	40 – 60	**mg/dL**
Creatinina	0.8 – 1.5	0.7 – 1.2	**mg/dL**
Fosfatasa Alcalina	38 - 126	38.- 126	**U/L**
Fósforo	2.5 – 4.5	2.5 – 4.5	**mg/dL**

GGT	15 – 73	12 – 43	**U/L**
Glucosa	74 – 106	74 – 106	**mg/dL**
TGO	Hasta 32	Hasta 38	**U/L**
TGP	Hasta 59	Hasta 36	**U/L**
LDH	313- 618	313 – 618	**U/L**
Magnesio	1.6 – 2.3	1.6 – 2.3	**mg/dL**
Proteínas Totales	6.3 – 8.2	6.3 – 8.2	**g/dL**
Proteínas en orina	15 – 45	10 – 45	**mg/dL**
Triglicéridos	Hasta 150	Hasta 150	**mg/dL**
Urea	19 – 43	15 – 36	**mg/dL**

ANEXO 2. VALORES CRÍTICOS EN BIOQUÍMICA CLÍNICA

SE AGREGARÁ CUADRO QUE SE ENCUENTRA EN EL MANUAL DE GESTIÓN Y DE VALORES CRÍTICOS.

ANEXO 3. LINEALIDAD, MUESTREO Y CONSERVACION DE REACTIVOS VITROS 350

ANALITO	MUESTRAS	LIMITE DETECCION	CONSERVACIÓN DE CARTUCHOS
FOSFATASA ALCALINA	Suero, Plasma heparina	15 -1500 U/L	Refrigerado
TGP - ALT	Suero, Plasma heparina / EDTA	3 - 950 U/L	Refrigerado
AMILASA	Suero, Plasma heparina	5 - 900 U/L	Congelado
TGO-AST	Suero Plasma heparina	4.0 - 950.0 U/L	Congelado
UREA	Suero, Plasma heparina / EDTA	1.0 - 100.0 mg/dL	Refrigerado
BIL.TOTAL	Suero, Plasma heparina	0.1 - 20.0 mg/dL	Refrigerado
CHOL.TOT	Suero, Plasma heparina	50 - 325 mg/Dl	Congelado
CK.TOTAL	Suero	20 - 1600 U/L	Congelado
CK- MB	Suero	1.0 - 300.0 U/L	Congelado
CREATININA	Suero, Plasma heparina	0.01 - 15.0 mg/dL	Congelado

GGT	Suero, Plasma heparina	5 - 1400 U/L	Refrigerado
GLUCOSA	Suero, Plasma heparina	20 - 625 mg/dL	Congelado
LIPASA	Suero, Plasma heparina	10 - 2000 U/L	Congelado
DHL	Suero, Plasma heparina	100 - 1750 U/L.	Congelado
MAGNESIO	Suero, Plasma heparina	0.20 - 7.0 mg/dL	Congelado
FOSFORO	Suero, Plasma heparina	0.50 - 13.00 mg/dL	Refrigerado
PROT.SERICA	Suero, Plasma heparina	2.00 - 11.00 g/dL	Refrigerado
TRIGLICERIDOS	Suero, Plasma heparina	15 - 400 mg/dL	Congelado
AC. URICO	Suero, Plasma heparina	0.30 - 16.00 mg/dL	Refrigerado
PCR	Suero, Plasma heparina / EDTA	0.3 - 9 mg/L	Congelado

ANEXO 4. MARCADORES BIOLOGICO MEDIDOS POR CLEIA EN PATHFAST

Parámetros	Valor referencial	Rango de medición	Muestras
Troponina I	< 0.02 ng/mL	0.02 - 50	100 uL Sangre total con heparina de Litio / EDTA
Dímero D	0.063 - 0.071 ug/mL	0.005 - 5.0	100 uL Sangre total con citrato de sodio
NT-pro BNP	< 125 pg/mL (< 75a) < 450 pg/mL (> 75a)	15 - 30,000	100 uL Sangre total con heparina de Litio / EDTA
HGC cuantitativo	< 25.0 mUI/mL	1- 500	100 uL Sangre total con heparina de Litio / EDTA

8. BIBLIOGRAFIA

- PATHFAST, (2011-2016). A compact immunoanalyzer with superior assay performance, disponible en línea. Disponible en: http://www.pathfast.eu/ PATHFAST™

- Universidad Autónoma de México (2009), Manual De Prácticas Bioquímica Clínica. Facultad de química. MEXICODF.

- Inc. Johnson& Johnson Company (2004). MANUAL DE VITROS Instrucciones de uso. Ortho – Clinical Diagnostics. EE.UU

- Vital Scientific. User´s (2001). Manual – Vitalab Micro Series Analyser System Microlab 300, MANUAL DE USO. Germany.

- Mitsubishi Chemical Medience Corporation (2005). PATHFAST. MANUAL DEL USUARIO Ver 2. 20s. ALEMANIA.

- RADIOMETER MEDICAL ApS. ABL80 FLEX.(2012). OPERATOR´S MANUAL.

- INFOPIA. (2014) Self Analyzer Clover A1c. Manual de uso. Korea.