



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA: TECNOLOGÍA MÉDICA

ESPECIALIDAD: LABORATORIO CLÍNICO

**TESINA DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE LICENCIADO EN CIENCIAS DE LA SALUD
ESPECIALIDAD: LABORATORIO CLÍNICO.**

**“DETERMINACIÓN DE LA VARIABILIDAD BIOLÓGICA
EN LAS PRUEBAS DE LABORATORIO EN EL ÁREA
DE QUÍMICA SANGUÍNEA DEL HOSPITAL CARLOS
ANDRADE MARIN DE LA CIUDAD DE QUITO”,
DURANTE EL PERÍODO ENERO – JUNIO DEL 2011.**

AUTOR: Eduardo Daniel Barragán Barragán

TUTOR(S): Lic. Mercedes Balladares

Riobamba, Diciembre 2011.

DERECHO DE AUTORIA

Yo Eduardo Daniel Barragán Barragán soy responsable de todo el contenido de este trabajo investigativo, los derechos de autoría pertenecen a la Universidad Nacional de Chimborazo.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo de investigación está dedicado a mi madre, por ser la persona que me apoyó en todo momento para seguir adelante, obtener una profesión y servir a la sociedad.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA: TECNOLOGÍA MÉDICA

ESPECIALIDAD: LABORATORIO CLÍNICO

TÍTULO:

**DETERMINACIÓN DE LA VARIABILIDAD BIOLÓGICA
EN LAS PRUEBAS DE LABORATORIO EN EL ÁREA
DE QUÍMICA SANGUÍNEA DEL HOSPITAL CARLOS
ANDRADE MARIN DE LA CIUDAD DE QUITO,
DURANTE EL PERÍODO ENERO – JUNIO DEL 2011.**

APROBADO POR EL TRIBUNAL QUE LO INTEGRA

NOMBRE

FIRMA

.....

.....

.....

.....

.....

.....

INDICE GENERAL

ASPECTOS GENERALES.....	I
ÍNDICE.....	II
RESUMEN.....	III
SUMMARY.....	IV
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO 1.

1. Problematización.....	3
1.1. Planteamiento del problema.....	3
1.2. Formulación del problema.....	4
1.3. Objetivos.....	4
1.3.1 Objetivo General.....	4
1.3.2 Objetivos Específicos.....	4
1.4 Justificación.....	5

CAPÍTULO 2.

2. Marco teórico.....	6
2.1 Posicionamiento personal.....	6
2.2 Fundamento Teórico.....	6
2.2.1 Glucosa.....	6
2.2.2 Urea.....	8

2.2.3	Colesterol total.....	9
2.2.4	Triglicéridos.....	10
2.2.5	CK.....	11
2.2.6	LDH (lactato deshidrogenasa).....	13
2.2.7	Variabilidad Biológica.....	15
2.2.8	Los factores pre analíticos.....	17
2.2.9	Factores no modificables.....	18
2.2.10	Factores modificables.....	18
2.2.11	Preparación del paciente.....	19
➤	La tensión mental (estrés).....	19
➤	Ejercicio físico.....	20
➤	La dieta.....	20
➤	El consumo de alcohol.....	21
➤	El hábito de fumar.....	21
➤	La postura.....	22
➤	Otros.....	23
➤	Solicitud.....	23
2.2.12	Procedimientos médicos.....	24
2.2.13	Medicamentos.....	24
2.2.14	Toma de la muestra.....	25
➤	Tiempo de muestreo.....	26

2.2.15	Interferencias con especímenes.....	26
➤	Lisis o fuga de células.....	26
➤	Anticoagulantes.....	27
➤	Suero Ictérico.....	28
➤	Suero Lactescente.....	28
2.2.16	Interferencias químicas por medicamentos y por metabolitos endógenos.....	29
2.2.17	Almacenamiento.....	29
2.3	Definición de términos básicos.....	30
2.4	Hipótesis y Variable.....	32
2.4.1	Hipótesis.....	32
2.4.2	Variables.....	32
2.4.2.1	Variable Independiente.....	32
2.4.2.2	Variable Dependiente.....	32
2.4.2.3	Operacionalización de Variables.....	32

CAPÍTULO 3.

3.	Marco Metodológico.....	35
3.1	Método Científico.....	35
3.1.1	Tipo de investigación.....	38
3.1.2	Diseño de la investigación.....	38

3.1.3	Tipo de estudio.....	38
3.2	Población y muestra.....	39
3.3	Técnicas e instrumentos para la recolección de datos.....	39
3.4	Técnicas para el procesamiento de la información.....	39
3.4.1	Tabulación de datos.....	39
3.4.2	Procesamiento de datos.....	39
3.4.3	Análisis de datos.....	39

CAPÍTULO 4.

4.1	CONCLUSIONES.....	56
4.2	RECOMENDACIONES.....	57
4.3	BIBLIOGRAFIA.....	58
4.4	ANEXOS.....	60

INDICE

CUADROS, GRÁFICOS, ANEXOS

CUADROS

I.	Clasificación por género de los pacientes objeto de estudio del hospital Carlos Andrade Marín.....	48
II.	Número de pacientes por rango de edad para el estudio de la variabilidad biológica.....	49
III.	Análisis de la glucosa mediante un test “t student” para datos emparejados.....	50
IV.	Análisis de la urea mediante un test “t student” para datos emparejados.....	51
V.	Análisis del colesterol total mediante un test “t student” para datos emparejados.....	52
VI.	Análisis de triglicéridos mediante un test “t student” para datos emparejados.....	53
VII.	Análisis de CK mediante un test “t student” para datos emparejados.....	54
VIII.	Análisis de LDH mediante un test “t student” para datos emparejados.....	55

GRÁFICOS

1.	Clasificación por género de los pacientes objeto de estudio del hospital Carlos Andrade Marín.....	48
2.	Número de pacientes por rango de edad para el estudio de la variabilidad biológica.....	49
3.	Análisis de la glucosa para datos emparejados.....	50
4.	Análisis de la urea mediante un test “t student” para datos emparejados.....	51
5.	Análisis del colesterol total para datos emparejado.....	52
6.	Análisis de triglicéridos para datos emparejados.....	53
7.	Análisis de CK para datos emparejados.....	54
8.	Análisis de LDH para datos emparejados.....	55

RESUMEN

Para comprender la variación biológica que se entiende como las variaciones en las determinaciones cuantitativas en torno a un punto homeostático en sujetos sanos y obtener el máximo beneficio de los resultados de laboratorio, En el presente estudio utilizando tecnologías adecuadas para la determinación de pruebas Bioquímicas como la Glucosa y la Urea, Colesterol total, Triglicéridos, LDH y CK. Se analizó en un total de 50 pacientes, aparentemente sanos, el análisis se lo realizará en dos períodos de tiempo en donde se denominarán control a los pacientes que han cumplido con las normas preanalíticas, a este mismo grupo de pacientes luego de un tiempo (1 día) se les extraerá nueva muestra para realizar las mismas pruebas pero para esta ocasión los pacientes vendrán dos horas después de desayunar tiempo en el cual el organismo metaboliza lo ingerido y vuelve a los valores normales a este grupo lo denominaremos estudio, luego procesaremos la información estadísticamente a través de una prueba para datos apareados en la cual pretendemos a través de una hipótesis determinar si el valor supuesto o hipotético de un parámetro poblacional debe aceptarse o rechazarse y de esta forma comprobar si existe o no variabilidad biológica, obteniéndose los siguientes resultados: Que las pruebas de Glucosa con el 75%, Urea con el 50%, Colesterol total con el 75%, Triglicéridos con el 50%, LDH con el 100% y CK con el 100% del total de las muestras del estudio, no presentaron variabilidad significativa en condiciones basales y de control motivo por lo cual la ingesta de alimentos y ejercicio físico fue mínima y los resultados obtenidos son confiables y son de gran utilidad para los médicos para poder dar un correcto diagnóstico. Pero en las mismas pruebas Glucosa con el 25%, Urea con el 50%, Colesterol total con el 25%, Triglicéridos con el 50%, del total de las muestras del estudio si presentaron variabilidad en los resultados una vez hecho el respectivo análisis pacientes en quienes si influenció el ejercicio físico y la alimentación, implicando que estos valores no serían confiables para el Médico. Consecuentemente es indispensable vigilar los factores preanalíticos. Entre ellos tenemos la edad, el sexo, el ejercicio, el estado nutricional, la dieta y el uso de medicamentos.

SUMMARY

To understand the biological variation is understood as variations in quantitative determinations around a homeostatic point in healthy subjects and get the most out of the laboratory results, in the present study using appropriate technologies for determining Biochemical tests such as Glucose and urea, total cholesterol, triglycerides, LDH and CK. We analyzed a total of 50 patients, apparently healthy, the analysis will be conducted in two time periods where control will be referred to patients who have met the standard pre-analytical, this same group of patients after a time (1 day) were extracted new sample to perform the same test but this time the patients come two hours after breakfast time in which the body metabolizes it swallowed and return to normal we will call this group study, then process the information through a statistical test for paired data in which we try through a hypothesis to determine whether alleged or hypothetical value of a population parameter must be accepted or rejected and thus check whether there is biological variability, obtaining the following results: that glucose tests with 75% Urea 50%, total cholesterol by 75%, triglycerides by 50%, LDH and CK 100% to 100% of the total study samples did not show significant variability in baseline and control which is why food intake and physical activity was minimal and the results are reliable and are very useful for doctors to give a correct diagnosis. But on the same tests with 25% Glucose, Urea 50%, total cholesterol 25%, triglycerides by 50% of all samples from the study if variability in the results presented it after the respective analysis patients in whom if influenced exercise and diet, implying that these values would not be reliable for the Doctor. Consequently, it is essential to monitor pre-analytical factors. Among them are age, sex, exercise, nutritional status, diet and medication use.

INTRODUCCIÓN.

La tendencia actual de implantar Sistemas de Gestión de Calidad en los laboratorios clínicos implica la gestión del proceso en su totalidad, incluyendo las fases preanalítica, analítica y pos analítica.

Sin embargo, en la actualidad, con la mejora tecnológica, la fase preanalítica ha mostrado ser la mayor fuente de errores en el laboratorio, por lo que los procesos de mejora continua de calidad se centran fundamentalmente en la utilización de acciones preventivas y correctivas en esta fase.

Es responsabilidad del laboratorio garantizar la calidad de la información que proporciona sobre el estado de salud de una persona, y para ello debe controlar todos los procedimientos desde que el médico solicita el análisis hasta que éste recibe el informe final.

El tiempo que transcurre entre la petición de las determinaciones analíticas por parte del clínico y el análisis de la muestra es lo que se conoce como fase preanalítica.

Una preparación correcta del paciente, así como una correcta extracción del espécimen, cumplimiento de peticiones, transporte, identificación, preparación para su análisis, son aspectos fundamentales en esta fase.

Las magnitudes biológicas están sometidas a dos tipos de variabilidad; la variabilidad biológica y la analítica, responsables de que los valores de un determinado parámetro sean diferentes entre diferentes, individuos y de que incluso en una misma persona difieran en el tiempo.

Como se ha comentado anteriormente, la fase preanalítica es la secuencia de acontecimientos que tienen lugar antes de que la muestra

convenientemente preparada sea sometida al proceso de análisis propiamente dicho.

Actualmente se considera la fase más crítica del proceso ya que en ella es donde se produce un mayor número de errores y donde se puede perder más tiempo.

El error preanalítico es el más frecuente. En distintos estudios se estima su frecuencia en un 17%, 31%, 75% e incluso hay autores que llegan a encontrar un 84%. Debido a que en la fase preanalítica inciden aspectos muy diversos; estas diferencias pueden explicarse por los distintos criterios de evaluación o por un aumento de las variables en el estudio.

El establecimiento de criterios de aceptación-rechazo de los especímenes o las muestras obtenidos que llegan al laboratorio, debe ser una de las medidas a tomar para el establecimiento de un sistema de calidad adecuado.

CAPÍTULO 1.

1. PROBLEMATIZACIÓN.

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Muchas pruebas de laboratorio clínico pueden variar durante la vida de un individuo, a causa simplemente, de los factores biológicos naturales ligados al crecimiento. Estas variaciones se pueden producir en momentos críticos del ciclo vital, como en los periodos neonatales, infancia, pubertad, menopausia o vejez. Además, algunos constituyentes tienen ritmos o ciclos biológicos predecibles, como ciertas hormonas que pueden tener ciclos diarios, mensuales o estacionales.

De ahí la necesidad de trabajar sobre los factores preanalíticos, que son sobre los que ineludiblemente el médico de asistencia puede ejercer una acción encaminada a la obtención de un resultado confiable desde el punto de vista diagnóstico, sin que tenga que ser una labor única del laboratorio clínico. Son la preparación del paciente, la confección de la solicitud de análisis y los cuidados para la obtención de las muestras los principales factores que componen dicha fase, de los cuales dependen la calidad de los resultados; aunque también sería correcto incluir la práctica apropiada de la anamnesis y el examen físico, y un correcto criterio clínico para realizar una indicación, como factores iniciadores de la fase preanalítica. Esto último es importante, si se recuerda que los procedimientos de laboratorio representan la extensión de una anamnesis y un examen físico realizados cuidadosamente.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.

El interés y la importancia de la seguridad del paciente en el laboratorio ha llevado a la creación de revistas especializadas, que intentan crear una cultura de conocimiento de los errores y proponer estrategias para su control y disminución, es la razón por la cual esta investigación pretende determinar cómo influye la variabilidad biológica en las pruebas de laboratorio en el Hospital Carlos Andrade Marín de la ciudad de Quito en el año 2011.

1.3 OBJETIVOS.

1.3.1 OBJETIVO GENERAL.

- Determinar la variabilidad biológica en las pruebas de laboratorio en la fase preanalítica la cual ha mostrado ser la mayor fuente de errores.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Identificar variaciones durante la toma de muestra, manipulación, transporte y conservación de las muestras.
- Orientar correctamente al paciente previo a la toma de muestra, así como una correcta extracción del espécimen, cumplimentación de peticiones, transporte, identificación, preparación para su análisis.
- Establecer una serie de recomendaciones para la obtención de muestras con la mejor calidad posible, minimizar en lo posible el efecto de las interferencias y evitar molestias innecesarias en los pacientes.

1.4 JUSTIFICACIÓN.

El propósito de esta investigación pretende determinar aquellos factores que pueden afectar al espécimen durante todo el proceso preanalítico, en el que se incluyen preparación del paciente, toma de la muestra, conservación y transporte de la misma.

Es tarea fundamental de un laboratorio el proveer resultados confiables, entendiendo por veracidad de los resultados analíticos, la precisión, la exactitud, la sensibilidad, la especificidad y la eficiencia instrumental.

Se realiza para determinar la variabilidad biológica en las pruebas de laboratorio, ya que el mismo tiene como tarea fundamental el proveer resultados confiables, entendiendo por veracidad de los resultados analíticos, la precisión, la exactitud, la sensibilidad, la especificidad y la eficiencia instrumental.

El beneficio de esta investigación será establecer una serie de recomendaciones para la obtención de muestras con la mejor calidad posible, minimizar en lo posible el efecto de las interferencias de cualquier tipo de error en el proceso global del laboratorio clínico puede conducir a equivocaciones que afectan negativamente al proceso diagnóstico, con el consiguiente riesgo potencial para los pacientes, esperado contribuir con el mejoramiento del servicio de los Laboratorios Clínicos.

Trabajo de investigación que se pondrá al alcance de todas las personas que deben intervenir, (Personal de salud, profesionales en Laboratorio Clínico, estudiantes), para evitar que se siga cometiendo errores en la parte preanalítica en el laboratorio.

CAPÍTULO 2.

2. MARCO TEÓRICO.

2.1 POSICIONAMIENTO PERSONAL.

Este trabajo de investigación está basado en la técnica del pragmatismo debido a que para realizar el estudio de la variabilidad biológica en las pruebas de laboratorio en el área de química sanguínea del Hospital Carlos Andrade Marín se debe realizar mediante pruebas o ensayos prácticos para correlacionar la teoría con los resultados.

2.2 FUNDAMENTO TEÓRICO.

2.2.1 GLUCOSA.

La Glucosa es un azúcar que es utilizado por los tejidos como forma de energía al combinarlo con el oxígeno de la respiración. Cuando comemos el azúcar en la sangre se eleva, lo que se consume desaparece de la sangre, para ello hay una hormona reguladora que es la insulina producida por el páncreas (islotos pancreáticos). Esta hormona hace que la glucosa de la sangre entre en los tejidos y sea utilizada en forma de glucógeno, aminoácidos, y ácidos grasos. Cuando la glucosa en sangre está muy baja, en condiciones normales por el ayuno, se secreta otra hormona llamada glucagón que hace lo contrario y mantiene los niveles de glucosa en sangre.

El tejido más sensible a los cambios de la glucemia es el cerebro, en concentraciones muy bajas o muy altas aparecen síntomas de confusión mental e inconsciencia.

➤ **Valores Normales de Azúcar en la Sangre**

El nivel de glucosa en la sangre es la cantidad de glucosa (azúcar) que contiene la sangre, también se denomina glucosa en suero y glucemia. La cantidad de glucosa que contiene la sangre se mide en milimoles por litro (mmol/l) o en miligramos por decilitro (mg/dl).

Normalmente, el nivel de glucosa en sangre se mantienen dentro de límites estrechos a lo largo del día (72-145 mg/dl; 4-8 mmol/l). Sin embargo, sube después de las comidas y es más bajo por la mañana antes del desayuno. Las personas con diabetes se caracterizan por tener niveles de glucosa más altos de lo normal.

Pueden modificar los valores de glucemia y no ser por una diabetes ciertas situaciones:

- Estrés por enfermedades agudas (infarto cerebral, cardiaco, anestesia general)
- Los tratamientos con sueros en vena, ya que contienen dextrosa (azúcar)
- Embarazo
- Medicamentos (antidepresivos, antihipertensivos, hormonas femeninas, etc...)
- El alcohol y analgésicos pueden disminuirla.

➤ **¿Cuál es el nivel de glucosa adecuado?**

Los valores óptimos son:

- 72-110 mg/dl (4 -7 mmol/l) en ayunas
- Inferior a 180 mg/dl (10 mmol/l) si se mide una hora y media después de las comidas. (REVERTÉ Devlin.2007)

2.2.2 UREA.

La urea se forma a través de un proceso de degradación proteínica, la proteína se transforma a partir de aminoácidos en amoníaco (desaminación oxidativa), como un producto final y de ahí en urea (ciclo de la ornitina) dentro del hígado. Debido a que el organismo no utiliza urea, es transportada en la sangre hasta que es excretada por vía urinaria. Sus concentraciones varían fisiológicamente, dependiendo de una manera directa del consumo de proteínas en la dieta (exógeno) y del estado de hidratación (proporción de soluto a solvente en el cuerpo), o de modo indirecto por la tasa del catabolismo tisular (rápida degradación corporal, que incrementa el desperdicio de nitrógeno), o por la tasa de anabolismo tisular (disminución de las concentraciones por un mayor índice de construcción tisular, como sucede durante la gestación o convalecencia).

La urea se excreta en el filtrado glomerular y se reabsorbe (probablemente por difusión) en el túbulo de la neurona. Sólo se excreta una fracción de todo el material de desperdicio contenido en el filtrado glomerular, pero a causa de que la urea se resorbe en los túbulos de manera deficiente, se resorbe poca urea, esto es un efecto benéfico.

Es el principal metabolito de las proteínas. Los valores oscilan entre 16 y 45 mg/dl. Se suele expresar como BUN o nitrógeno ureico sanguíneo (urea = BUN x 2,146).

Se cuantifica mediante una prueba espectrofotométrica cinética.

Su aumento puede ser debido a un incremento importante del aporte proteico, a aumento del catabolismo proteico, a disminución de la perfusión renal (shock, deshidratación, insuficiencia cardiaca, síndrome hepatorenal), a insuficiencia renal parenquimatosa aguda o crónica o a insuficiencia renal postrenal por obstrucción.

Aunque la urea sanguínea es un parámetro muy utilizado en la valoración de la función renal, es poco sensible, ya que sólo se eleva cuando se ha perdido más de la mitad de la función renal, y no demasiado específica. La urea sanguínea disminuye en situaciones de hemodilución y en la insuficiencia hepática, ya que se sintetiza en el hígado. (Ballcells, G.A. 2001.)

2.2.3 COLESTEROL TOTAL.

El colesterol es una sustancia grasa (un lípido) presente en todas las células del organismo. El hígado elabora todo el colesterol que el organismo necesita para formar las membranas celulares y producir ciertas hormonas. Cuando comemos alimentos de origen animal, tal como carne, huevos y productos lácteos, introducimos colesterol adicional en el organismo. Aunque a menudo atribuimos la elevación del colesterol en sangre al colesterol que contienen los alimentos que comemos, la causa principal de este aumento es, en realidad, la grasa saturada. La materia grasa de los lácteos, la grasa de la carne roja y los aceites tropicales tales como el aceite de coco son algunos alimentos ricos en grasa saturada.

Los niveles de colesterol en sangre, que indican la cantidad de lípidos o grasas presentes en la sangre, se expresan en miligramos por decilitro (mg/dl). En general, se recomienda un nivel de colesterol inferior a los 200 mg/dl. Entre los 200 mg/dl y los 239 mg/dl, el nivel de colesterol se considera elevado o limítrofe y es aconsejable reducirlo. Un nivel de 240 mg/dl o más de colesterol se considera elevado y es necesario tomar medidas para reducirlo. Algunas maneras de reducir el nivel de colesterol son cambiar la alimentación, iniciar un programa de ejercicio físico y tomar medicamentos reductores del colesterol.

(www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/cholesterol.html)

2.2.4 TRIGLICÉRIDOS.

Los triglicéridos son el principal tipo de grasa transportado por el organismo. Recibe el nombre de su estructura química. Luego de comer, el organismo digiere las grasas de los alimentos y libera triglicéridos a la sangre. Estos son transportados a todo el organismo para dar energía o para ser almacenados como grasa.

El hígado también produce triglicéridos y cambia algunos a colesterol. El hígado puede cambiar cualquier fuente de exceso de calorías en triglicéridos.

➤ ¿Cuál es el nivel normal de triglicéridos?

Los niveles de triglicéridos varían con la edad, y también dependen de qué tan reciente ingirió alimentos antes del examen. La medición es más precisa si no se ha comido en las 12 horas previas al examen. El valor normal es de 150 mg/dl. Para quienes sufren problemas cardíacos, los niveles de esta sustancia deben ser inferiores a los 100 mg/dl.

Si el colesterol tiene un valor normal, un nivel elevado de triglicéridos no parece ser un factor de riesgo de enfermedad cardíaca, pero sí puede ser riesgoso al asociarse con diabetes y pancreatitis.

➤ ¿Qué causa altos niveles de Triglicéridos?

Puede tener varias causas:

- Exceso de peso: los triglicéridos aumentan generalmente a medida que aumenta el peso
- Consumo excesivo de calorías: Los triglicéridos se elevan a medida que se aumenta de peso o se ingieren demasiadas calorías, especialmente

provenientes de azúcar y del alcohol. El alcohol aumenta la producción de triglicéridos en el hígado.

- Edad: los niveles de triglicéridos aumentan regularmente con la edad
- Medicamentos: Algunas drogas como los anticonceptivos, esteroides, diuréticos causan aumento en los niveles de los triglicéridos.
- Enfermedades: La diabetes, el hipotiroidismo, las enfermedades renales y hepáticas están asociadas con niveles altos de triglicéridos. Entre los grupos que deben vigilar con mayor cuidado su nivel de triglicéridos se encuentran los diabéticos y las mujeres después de la menopausia. Más de un 75% de los diabéticos tienen los niveles de triglicéridos altos y el 30% de las mujeres que han pasado por la menopausia sufren de este mismo problema.
- Herencia: algunas formas de altos niveles de triglicéridos ocurren entre miembros de una misma familia.

(<http://www.geosalud.com/Nutricion/trigliceridos.htm>)

2.2.5 LDH (LACTATO DESHIDROGENASA).

La lactato deshidrogenasa.- Es una enzima catalizadora que se encuentra en muchos tejidos del cuerpo, pero su presencia es mayor en el corazón, hígado, riñones, músculos, glóbulos rojos, cerebro y pulmones.

Corresponde a la categoría de las oxidoreductasas, dado que cataliza una reacción redox, en la que el piruvato es reducido a lactato gracias a la oxidación de NADH a NAD⁺. Dado que la enzima también puede catalizar la oxidación del hidroxibutirato, ocasionalmente es conocida como Hidroxibutirato Deshidrogenasa (HBD).

Participa en el metabolismo energético anaerobio, reduciendo el piruvato (procedente de la glucólisis) para regenerar el NAD^+ , que en presencia de glucosa es el sustrato limitante de la vía glucolítica.

Los vertebrados, en algunos tejidos o tipos celulares, obtienen la mayor parte de su energía del metabolismo anaerobio (toda en el caso de eritrocitos dado que carecen de mitocondrias).

➤ **Isoenzimas**

La lactato deshidrogenasa (140 kDa) está formada por 4 subunidades, cada una de unos 35 kDa. Se conocen tres tipos de subunidades: H (LDHB), M (LDHA) y X (LDHC), que presentan pequeñas diferencias en su secuencia de aminoácidos. Los tipos H y M pueden asociarse independientemente para formar tetrámeros, dando lugar a cinco isoenzimas (isoformas: modificaciones post-traduccionales de la enzima), correspondientes a las cinco combinaciones posibles, cada una de las cuales se encuentra preferentemente en determinados tejidos y puede identificarse mediante electroforesis.

- LDH-1 (H₄): en el corazón, músculos y eritrocitos.
- LDH-2 (H₃M): en el sistema retículo endotelial y leucocitos.
- LDH-3 (H₂M₂): en los pulmones.
- LDH-4 (H₁M₃): en los riñones, placenta y páncreas.
- LDH-5 (M₄): en el hígado y músculo esquelético.

➤ **Fisiopatología**

La LDH pasa a la sangre ante toda destrucción de estos tejidos (traumática, infecciosa o neoplásica), por lo que su elevación en el suero es un *signo inespecífico* de organicidad de un proceso, es decir, de que un órgano o tejido ha sido lesionado. También es un índice de proliferación en el seguimiento de una neoplasia y es relativamente valiosa para el diagnóstico

y seguimiento del infarto agudo de miocardio pues su elevación en este proceso es poco específica.

Los niveles aumentados de LDH pueden indicar:

- Cardiopatías: infarto de miocardio, miocarditis, insuficiencia cardíaca aguda, arritmias cardíacas.
- Enfermedades hematológicas.
- Hepatopatías: hepatitis, hepatopatía tóxica, obstrucción de las vías biliares.
- Metástasis tumorales.
- Otros: tromboembolismo pulmonar, neumonías, insuficiencia renal aguda, infarto renal, hipotiroidismo, ejercicio muscular muy violento, fiebre tifoidea, tratamiento con medicamentos hepatotóxicos, alcoholismo.

(http://es.wikipedia.org/wiki/Lactato_deshidrogenasa)

2.2.6 CK (CREATIN - KINASA)

La CreatinKinasa (CK), también conocida como CreatinFosfoKinasa (CPK) es una enzima, presente en varios tipos de tejido muscular.

Su función es la catálisis de Fosfocreatina o CP, para facilitar que en el músculo se libere la energía que éste requiere para su contracción.

La única función de la CPK es la catálisis de la Fosfocreatina para que ésta done su fosfato a la molécula de ADP, convirtiéndola en ATP, y haciendo de ésta un nuevo reservorio de energía química, lista para ser convertida en la energía mecánica necesaria para el proceso de contracción del músculo.

De aquí se infiere claramente que, cuando realizamos un esfuerzo físico, cualquiera que sea su naturaleza y su intensidad, en la sangre se puede encontrar cierta cantidad de CPK. En otras palabras, y dado que la vida misma implica el movimiento constante de músculos, tanto de aquellos que dependen de nuestra voluntad (los de nuestros brazos o piernas, por ejemplo), como los que son controlados por nuestro Sistema Nervioso Autónomo (corazón, pulmones, etc.), es de esperarse que en nuestra sangre siempre existan ciertos niveles de dicha enzima.

➤ **¿Cuáles son las clases CPK que existen?**

Se distinguen tres tipos o isoenzimas de la CPK:

- CPK-1 ó CPK-BB, presente en el tejido cerebral y pulmón
- CPK-2 ó CPK-MB, de origen cardiaco
- CPK-3 ó CPK-MM, de origen músculo esquelético

➤ **¿Qué causas pueden hacer que se eleve el nivel de la CPK?**

Los niveles aumentados de CPK-1 o BB en la sangre pueden indicar:

- Cáncer de cerebro
- Infarto cerebral
- Infarto pulmonar

También puede elevarse después de:

- Tratamientos de electroconvulsión
- Hemorragias subaracnoidea
- Convulsiones

Los niveles aumentados de CPK-2 o MB en la sangre pueden indicar:

- Arritmias ventriculares

- Isquemia o infarto cardiaco

También puede elevarse después de alguna:

- Electrocuación
- Tratamiento de desfibrilación cardiaca
- Intervención de corazón

La CPK-3 o MM es la isoenzima más abundante en la medida total de la CPK en personas sanas, si se eleva se debe a lesiones del músculo esquelético o por ejercicio físico muy intenso.

Los niveles aumentados de CPK-3 o MM en la sangre pueden indicar:

- Distrofia muscular

(<http://www.postpoliomexico.org/CPK/LaCPK.htm>)

2.2.7 VARIABILIDAD BIOLÓGICA.

Se entiende por Variación Biológica o Variabilidad Biológica a las variaciones en las determinaciones cuantitativas en torno a un punto homeostático en sujetos sanos (Sánchez, J. Rivera G. 1995).

Muchas pruebas de laboratorio clínico pueden variar durante la vida de un individuo, a causa simplemente, de los factores biológicos naturales ligados al crecimiento. Estas variaciones se pueden producir en momentos críticos del ciclo vital, como en los periodos neonatales, infancia, pubertad, menopausia o vejez. Además, algunos constituyentes tienen ritmos o ciclos biológicos predecibles, como ciertas hormonas que pueden tener ciclos diarios, mensuales o estacionales (Moran, L. 2001).

Sin embargo, la mayoría de los constituyentes no tienen ritmos cíclicos que sean de importancia clínica. De hecho, la variación que pueden experimentar se observa fácilmente en la práctica diaria. Si pudiéramos experimentar y sacar varias muestras de un mismo paciente en un período corto de tiempo (días-semanas) y analizarlas todas juntas, manteniendo las mismas condiciones de preparación previa al análisis en todos los casos (condición pre-analítica), se observará que existe una distribución de valores para un mismo análisis. Esta distribución de valores tendrá un valor más probable que será el valor promedio de todas las determinaciones (Ramírez, S. Gómez, L. 2006).

La variación de los valores, es diferente para cada analito y no se han observado diferencias en los mismos por ubicación geográfica o raza. En todos los casos se observa que estos valores se encuentran dentro de los valores de referencia, ya que son sujetos sanos. Existen determinaciones que tendrán menor o mayor variación. No existe un único valor para todas las determinaciones. Pudiéndose observar que existen tantas variaciones en un individuo, llamado variación biológica intra individual y entre individuos, distintos individuos tienen diferentes puntos de ajuste, llamados variación biológica inter individual (Sánchez, J. Rivera G. 1995).

Aplicación y utilidad del concepto de variabilidad biológica. Existe una base de datos de valores de variabilidad biológica para más de 400 determinaciones utilizadas en el laboratorio clínico, siendo esta base actualizada permanentemente. Los datos fueron obtenidos en diferentes estudios en personas sanas. La utilidad de esta información radica en que los mismos pueden brindar información para establecer cuando un cambio de resultados consecutivos difiere o no respecto de lo biológicamente esperado para sujetos en condiciones estables. En los Laboratorios, esta información de variabilidad biológica es actualmente utilizada para asegurar que las variaciones analíticas se encuentran dentro de los límites

aceptables, además se utiliza en el proceso de validación de resultados. Cuando un paciente se realiza un análisis con fines diagnósticos, la comparación con el valor de referencia servirá para ubicar dentro de la normalidad o no a dicho paciente. El valor de referencia corresponde al rango de valores obtenidos para una población de referencia (Ramírez, S. Gómez, J.2006).

En algunas determinaciones, existen valores consensos establecidos por estudios epidemiológicos y de sociedades científicas como por ejemplo los valores de Colesterol total, LDL y HDL Colesterol y Triglicéridos entre otros. Muchas veces, un paciente puede presentar valores dentro del rango de referencia, pero a lo largo del tiempo se observa un cambio (disminución o aumento). Parte de este cambio estará relacionado con la parte analítica, y otra parte estará relacionada al cambio en el mismo individuo. No solamente es de esperar que un paciente presente valores dentro del rango de referencia, sino también que los mismos se mantengan en el tiempo (Sánchez, J. Rivera C. 1995).

En condiciones estables debería ser así. Cambios mayores, indican que existe una alta probabilidad de que el cambio sea significativo y que pueda existir una condición clínica incipiente diferente (normalidad a patología). El conocimiento y entendimiento de estos conceptos de variabilidad biológica permitirá establecer en el futuro bases racionales para su implementación en el reporte de resultados ayudando al médico en el proceso de interpretación de los mismos y la toma de decisiones médicas (Ramírez, S. Gómez, L. 2006).

2.2.8 LOS FACTORES PREANALÍTICOS.

Los factores preanalíticos que pueden introducir algún error en el resultado

pueden ser modificables o no modificables y deben tenerse en cuenta por el personal del laboratorio y por el facultativo que solicita la investigación (Álvaro, F. 2002).

2.2.9 FACTORES NO MODIFICABLES.

Dentro de estos se encuentran la edad, el sexo, la raza, el embarazo y el ciclo menstrual. Estos factores no pueden ser modificados, pero si se deben tener en cuenta por el médico en el momento de indicar un resultado de laboratorio, pues hay parámetros que varían según la edad, entre niños y adultos; la raza, la hemoglobina en pacientes normales y con anemia drepanocítica, el sexo y el hierro sérico en hombres y mujeres. El ciclo menstrual y el embarazo pueden provocar también variaciones en algunos parámetros como glicemia, fosfato, cobre, ceruloplasmina, fosfatasas séricas, colesterol, triglicéridos, amilasa, lipasa y HDL, entre otros. (González, A. 2010).

2.2.10 FACTORES MODIFICABLES.

Dentro de estos se incluyen la preparación del paciente y la correcta toma de muestra, que suelen ser más importantes que la misma técnica a utilizar para la determinación del analito en cuestión. Por ejemplo, no se resuelve mucho con determinar niveles séricos de HDL-colesterol con el último grito de la técnica (método directo, sin centrifugación), si al paciente no se le indica previamente que hiciera un ayuno de 12 horas; ni utilizar el mejor proceder para determinar bilirrubina, si la extracción de la muestra se realizó forzosamente y se provocó su hemólisis (González, J. 2005).

2.2.11 PREPARACIÓN DEL PACIENTE

➤ LA TENSION MENTAL (ESTRÉS)

Es recomendable que el paciente que se realice exámenes esté tranquilo un tiempo prudencial antes de realizarle la extracción. Debe tenerse mucho cuidado en cómo interpretar los resultados de componentes como la glucosa, luego de un suceso de tensión de gran trascendencia como un infarto agudo de miocardio o una intervención quirúrgica importante; o bien este mismo componente en un paciente ingresado, momento en el cual, producto de la enfermedad, está estresado, a diferencia de cuando es dado de alta con un diagnóstico y ya el nivel de tensión ha pasado; o cuando el examen se realiza a un paciente que ha tenido que llegar al hospital después de haber viajado en tres ómnibus. Los componentes que se pueden modificar por largos periodos de tensión son la glucosa, el colesterol, la transferrina, los factores de la coagulación, las células sanguíneas, la prolactina, el Cortisol y la catecolamina (Kronenberg, H. Polonsky, k.2009).

Al paciente ingresado no se le debe hacer otro tipo de pruebas agresivas el mismo día del examen de laboratorio, porque puede sufrir estrés, hecho que se observa con bastante frecuencia, sobre todo en la consulta externa donde los pacientes que se realizan la PTG (Prueba de Tolerancia a la Glucosa) utilizan el tiempo intermedio entre una extracción y la otra para realizarse, por ejemplo, una endoscopía. Muchas veces ocurre que el médico le indica al paciente una PTG de 6 horas, pero no le dice que recibirá 7 punciones para la extracción. Si el paciente se entera en el momento de la prueba, el estrés jugará su papel sobre la concentración plasmática de glucosa, además de estar incurriendo en una infracción ética. Lo mismo ocurre con el paciente que se realizara un coagulograma y en el momento de la extracción se entera que se puncionara en el lóbulo de la oreja, en el dedo y en el

antebrazo. Esto seguramente provocara estrés y, por consiguiente, la liberación de sustancias que disminuirán el diámetro de los vasos sanguíneos y la posibilidad de no encontrar una vena para puncionar (Kronenberg, H. Polonsky, k.2009).

➤ EJERCICIO FISICO

El ejercicio fuerte aumenta las concentraciones de ATP de las células musculares.

Esto puede conducir a un cambio en la permeabilidad de la membrana y a la liberación de enzimas intracelulares, razón por la cual la creatina cinasa (CK) sérica se eleva tras el ejercicio fuerte. También se aumenta la glicólisis y consecuentemente los niveles de ácido láctico; se produce cierto grado de hemólisis intravascular y, como la haptoglobina liga la hemoglobina liberada durante la hemólisis, los niveles de haptoglobina plasmática se encuentran también disminuidos. El ejercicio o trabajo muscular vigoroso durante tres días previos a la toma de muestra, altera los niveles de CPK, LDH, ion potasio, glucosa, lactato, creatinina y factores de la coagulación. El ejercicio más suave, incluyendo la flexión excesiva del antebrazo antes de la punción venosa, provoca cambios también, sobre todo en el potasio. Al igual que en el estrés se pueden estimular la producción de GH, prolactina, Cortisol y renina plasmáticas (González, A. 2010).

➤ LA DIETA

Es reconocida la influencia de la dieta sobre una gran cantidad de componentes que se miden diariamente en nuestros laboratorios y solo logrando una excelente comunicación con el paciente se puede obtener un resultado confiable. En la mayoría de las determinaciones se requiere un ayuno de 12 horas, aunque no siempre sea factible, para evitar las

interferencias que puede causar la dieta asociada a la lipemia. Estas interferencias pueden ser directas o indirectas. Es directa cuando una ingesta excesiva de glúcidos puede alterar los niveles de glucosa y de lípidos del plasma, e indirecta cuando la lipemia producida por la ingesta abundante de grasas produce interferencias por (a turbidez, en otras determinaciones desde el punto de vista analítico. Las variaciones en la concentración de lípidos después de una comida grasa son importantes. La insulina y la calcitonina séricas son ejemplos de hormonas, cuyos niveles sufren alteración después de la comida. Lo mismo ocurre con la glucosa, los fosfatos, los triglicéridos, la fosfatasa alcalina y la urea. Existen pruebas que se indican con bastante frecuencia, en las que usualmente no se orienta al paciente que debe tener una sobrecarga dietética en los días previos a su realización. Una dieta rica en proteínas de carne aumenta la urea, el amoniaco y el ácido úrico séricos. Una alta proporción de ácidos grasos no saturados en relación con los saturados da como resultado una disminución de los niveles de colesterol en suero. La dieta rica en purinas aumenta el ácido úrico sérico (Moreno B, Gargallo M, López M.1997)

➤ **EL CONSUMO DE ALCOHOL**

Los más importantes componentes que sufren alteración en su concentración debido al alcoholismo son las enzimas hepáticas (transaminasas, GGT); también la glucosa, los triglicéridos, el urato, el lactato y los factores de coagulación. El etanol produce cambios en la composición de los líquidos corporales que dependen de si el bebedor es del tipo fortuito o abusivo (Pérez J. 2006).

➤ **EL HÁBITO DE FUMAR**

El hábito de fumar afecta a la lipasa, la amilasa, el colesterol y la glucosa.

También afecta la absorción gástrica en la PTG, LDH; aumenta la carboxihemoglobina, las catecolamina del plasma y disminuye los Eosinófilos y monocitos y los ácidos grasos libres del plasma (Ventura S, Insa N, Ros J, NegueJ.2007).

➤ LA POSTURA

Cuando se adopta una postura erecta tras un periodo de reclinamiento, hay un movimiento de ultrafiltrado del compartimiento del fluido extracelular intravascular al extravascular. Esto produce 10-20% de hemoconcentración de macromoléculas y de las sustancias ligadas a ellas. La concentración plasmática de proteínas, péptidos, enzimas, calcio, fósforo, Fe sérico, lípidos y sustancias ligadas a proteínas, tales como Cortisol, tiroxina, medicamentos y lípidos resultan afectados. Cuando el paciente pasa de la posición supina a la erecta ocurren los mismos cambios pero en menor grado. El hematocrito, la hemoglobina y los leucocitos también sufren variaciones. Estos aspectos se deben tener en cuenta cuando se comparan los datos de un paciente que estuvo ingresado con los de un mes después, realizado en la consulta del laboratorio. En pacientes ambulatorios, la sangre debe colectarse después de que estos hayan permanecido sentados durante 15 minutos, aunque sus resultados no son comparables con los de los pacientes hospitalizados, cuya sangre se colecta a menudo después de haber estado acostados durante un largo periodo. Ello explica la incertidumbre que puede haber entre el resultado de un análisis hecho o en el cuerpo de guardia al paciente acabado de llegar, con el del realizado al mismo sujeto luego de ingresado en la sala cuando ha permanecido acostado durante un periodo largo. En las normas cubanas de endocrinología se contraindica la realización de la PTG al paciente ingresado (Boxaca M, Fernández S, Guerrero L, Kaufman A, Klajn D, Meeroff N, Patrone U. 1992).

➤ OTROS

La aplicación incorrecta del torniquete y el ejercicio practicado con el puño pueden dar lugar a resultados erróneos, sobre todo en el potasio. El lactato debe extraerse sin utilizar torniquete. Su uso prolongado puede producir aumento de enzimas, proteínas y sustancias unidas a las proteínas, como el colesterol, los triglicéridos, el hierro y el calcio (Deska k. 2009).

➤ SOLICITUD

Se debe realizar por el médico o bajo su responsabilidad, pues muchas veces el error comienza cuando esta se confecciona. Para ello existen normas generales que deben ser respetadas siempre:

- Escribir con letra clara y legible todos los datos.
- Emplear el modelo adecuado para la solicitud de que se trate.
- Brindar toda la información que se solicita en el modelo, sin perjuicio de añadir cualquier dato que, a juicio del facultativo, pueda ser de interés para el laboratorio (especialmente posibles causas de interferencias).
- Identificar de manera adecuada las solicitudes de análisis hechas a pacientes conocidos como portadores (o sospechosos de serlo) de enfermedades que implican riesgo de contagio para el personal que manipula las muestras (SIDA, hepatitis B ó C, etc.).
- No indicar análisis innecesarios; mucho menos en la categoría de urgencia sin una razón de peso que lo justifique. Casi nunca se requiere la realización de un "perfil" completo, ni existe una verdadera premura por conocer los resultados.
- La solicitud de exámenes de laboratorio debe seguir una secuencia lógica. Si esta se altera, se produce gasto innecesario de recursos, molestias al paciente y se corre el riesgo de cometer errores. Por ejemplo, no tiene sentido indicar una cuantificación de los niveles de hierro sérico, si no se ha

determinado antes la hemoglobina sanguínea, el hematocrito y las constantes corpusculares.

El paciente tiene absoluto derecho a recibir toda la información que solicite sobre su enfermedad. Esto incluye todas las pruebas para el diagnóstico, para la realización de las cuales debe otorgar su pleno consentimiento. No tener en cuenta este factor, además de una falta grave de ética, es fuente importante de errores. La información incluye, entre otras cosas, las razones por las cuales se le indican determinadas pruebas, los beneficios y los riesgos que se derivan de la realización o no de las mismas y la repercusión de los resultados obtenidos sobre la conducta que se seguirá con posterioridad, además de todas las instrucciones referentes a la preparación previa y la colección de la muestra, particularmente en el caso de la orina (Álvaro F. 2005).

2.2.12 PROCEDIMIENTOS MÉDICOS

La cirugía y las inyecciones aumentan los niveles de CPK, glicemia, ALAT, ASAT, amilasa. El tacto rectal y la manipulación prostática aumentan la concentración del antígeno prostático específico y de la FAC. El masaje y la palpación al paciente pueden también afectar la amilasa y la fosfatasa acida. Muchas de estas alteraciones tienen su explicación en el estrés que producen en el individuo que se someten a estos procedimientos (Kronenberg, H. Polonsky, k.2009).

2.2.13 MEDICAMENTOS

El tratamiento con medicamentos complica la interpretación de muchos resultados, por sus efectos in vivo sobre los mecanismos fisiológicos y bioquímicos o por sus efectos in vitro sobre el proceso de medición. Aunque existen manuales extensos dedicados al tema, según Henry la relación de los efectos de los medicamentos es tan extensa que sólo se puede mantener

al día en una base de datos computadorizada. Al llenar el modelo de solicitud de exámenes, es importante registrar todo tratamiento con medicamentos, para identificar los resultados anómalos en cuanto a la interacción de los fármacos con el compuesto medido. Esto ocurre con frecuencia en el estudio de la coagulación, donde el profesional de laboratorio suite cefaleas todos los días cuando obtiene un resultado que no concuerda con lo habitualmente obtenido y no se puede obtener ningún dato de la solicitud del médico. Los anticonceptivos orales afectan profundamente la actividad estrogénica y aumentan los niveles de muchas proteínas (tiroxinas, Cortisol, hormonas sexuales). Los barbitúricos y la fenitoína inducen enzimas hepáticas con niveles altos. Incluso, estas enzimas se utilizan para evaluar el tratamiento con estos medicamentos. Es recomendable suspender la aspirina 15 días antes de realizar un coagulograma, el cual (sobre todo el TP) se utiliza para evaluar la terapia anticoagulante. Como los niveles de aldosterona y renina varían inversamente con respecto a la actividad del sistema nervioso simpático, no se deben ingerir ni diuréticos ni antihipertensivos durante las tres semanas previas al análisis, si se quiere obtener resultados significativos (Blasetti A, Dvorkn M, Dubin A, Frydman J, Klajn D, Meeroff N, Patrone U. 2002).

2.2.14 TOMA DE LA MUESTRA

Es el periodo comprendido entre su recogida y su análisis real. La muestra debe tomarse e identificarse correctamente. Muchas veces los clínicos no tienen en cuenta que una toma de muestra mal realizada puede influir de modo considerable en los resultados que obtendrá. Por tanto esta no es sólo de interés del laboratorio y todos deben velar por su correcta realización. El medico de asistencia no puede influir directamente sobre la toma de la muestra, pero existen algunos datos de interés para su conocimiento que los pueden ayudar a interpretar mejor tos resultados obtenidos (Vives J, Aguilar J. 2006).

➤ TIEMPO DE MUESTREO

El momento más apropiado para la toma de la muestra es entre las 7:00 y las 9:00 a.m. debido a que muchos de los componentes de los líquidos biológicos siguen ritmos circadianos. Si no se pueden realizar a estas horas, ello se debe anotar y tener en cuenta al interpretar los resultados, ya que en los sistemas biológicos los cambios ocurren frecuentemente siguiendo ritmos biológicos bien definidos. De ahí la importancia de que el médico indique los complementarios, de ser posible en el horario referido que es en el que además están estandarizadas casi todas las determinaciones de laboratorio.

El ritmo menstrual influye sobre la LH, la FSH, los estrógenos y progesteronas, mientras que el circadiano ejerce su acción sobre la ACTH y los corticoides. Existen otras determinaciones séricas que dependen del tiempo de muestreo y no precisamente por influencias de algún ciclo biológico. Debido a que aumentan en un determinado momento después de producirse la enfermedad y luego vuelven a disminuir dejando de ser útiles para el diagnóstico, las enzimas para el diagnóstico del IMA (Infarto Agudo de Miocardio) son un ejemplo, donde el tiempo de la toma de la muestra es indispensable para establecer el diagnóstico. Las pruebas dinámicas como la PTG requieren tomas de muestra programadas cierto tiempo luego del estímulo. El factor temporal es también importante en el monitoreo de drogas terapéuticas por el tiempo de vida media de estas (Álvaro F. 2005).

2.2.15 INTERFERENCIAS CON ESPECÍMENES

➤ LISIS O FUGA DE CÉLULAS

Ciertas sustancias están presentes en los elementos formes de la sangre en concentraciones muchas veces superiores o inferiores respecto a las del plasma que las rodea. Por tanto la lisis de las células puede llegar a contaminar el plasma o el suero en niveles medibles. La hemólisis denota la

lisis anormal de los eritrocitos y puede estar asociada a extracción rápida de la sangre con la jeringuilla, su mezcla con anticoagulantes o ambas. Durante los pasos de centrifugación y separación de la muestra se produce lisis adicional. Los efectos de la hemólisis pueden dividirse en:

- Liberación de los constituyentes del eritrocito, incluyendo el agua
- Interferencia directa de la hemoglobina con diversos ensayos.

El suero normal presenta un aspecto visiblemente hemolítico, cuando la concentración de la Hb supera 200 mg/l, aunque en el suero icterico pudieran pasar inadvertidos niveles muy superiores. La hemólisis in vitro trae como consecuencia un aumento de la FAC, el Zinc y el magnesio en suero. La lisis eritrocitaria libera también sustancias que producen interferencias en el plasma y en el suero. La Hb liberada produce aumento aparente de la concentración de albumina en suero por el método del verde de bromocresol, una disminución de la concentración de bilirrubina si se determina por diazotización. La trombólisis in vitro puede aumentar marcadamente los niveles de potasio, magnesio y FAC. Según Henry, en algunos países la hemólisis puede ser un motivo de rechazo de muestras por el laboratorio y solo se practicara la prueba si el médico que la solicita firma una declaración asumiendo la posibilidad de cualquier posible error. Se deben ofrecer los resultados al médico con una nota donde se le explica cuando la muestra esta hemolizada para que sepa que interpretación le dará. Las Pruebas en las que la hemolisis interfiere son: LDH, TGO, TGP, CPK, triglicéridos, colesterol, bilirrubina, glucosa, creatinina, albumina, amilasa, FAC, GGT, fósforo, potasio.

➤ **ANTICOAGULANTES**

Los quelantes del calcio inhiben la actividad de algunas enzimas si luego no se añade calcio. La amilasa se inhibe por el citrato y el oxalato, mientras que el oxalato inhibe la LDH y la FAC. El citrato, el oxalato y el EDTA disminuyen

la concentración de calcio en plasma cuando se determina espectrofotométricamente, no así cuando es por absorción atómica. Esto es importante para muchos médicos que hacen ellos mismos las extracciones a sus pacientes y no consideran el anticoagulante usado.

➤ **SUERO ICTÉRICO**

La bilirrubina provoca en el suero un considerable color icterico cuando su concentración es superior a 430 mg/l (25 umol/l). La bilirrubina interfiere con la determinación de proteínas por el método de Biuret. También produce disminución de la creatinina por el método de Jaffe de dos puntos, no así en el de punto final con desproteinización. Pruebas en las que la ictericia interfiere: triglicéridos, proteínas totales, glucosa, creatinina, ácido úrico, albumina.

SUERO LACTESCENTE

El plasma presenta aspecto lactescente (lechoso) cuando la concentración de triglicéridos supera 4.6 mmol/l. La turbidez inducida por los triglicéridos provoca resultados aparentemente altos para todas las sustancias cuyas determinaciones se basen en la absorbancia a las mismas longitudes de onda en las que las partículas de lípidos también absorben luz. Inciden en albumina (verde bromocresol), calcio (cresolftaleína) y fosfato (molibdato); inhibe la amilasa y también la uricasa y la ureasa, lo que influye en la determinación de ácido úrico y urea; además inhibe la creatinquinasa, la bilirrubina y la proteína total cuando es >5.9 mmol/l. Para corregir en algo estas interferencias se debe usar un ensayo de referencia.

Pruebas en las que la lipemia interfiere: triglicéridos, glucosa, creatinina, ácido úrico, LDL colesterol, albumina, calcio, fósforo. CPK, bilirrubina, proteínas totales si es > 5.9 mmol/l.

2.2.16 INTERFERENCIAS QUÍMICAS POR MEDICAMENTOS Y POR METABOLITOS ENDÓGENOS

El acetoacetato, producido en las cetoacidosis diabética interfiere con el método espectrofotométrico para medir ASAT y aumenta sus niveles. También aumenta, aparentemente, la creatinina medida por el método de Jaffee. La introducción de métodos analíticos más específicos ha disminuido la frecuencia de interferencias químicas producidas por fármacos o metabolitos endógenos (González, A. 2010).

2.2.17 ALMACENAMIENTO

La pérdida de CO₂ del suero conduce a un aumento del nivel sérico del pH. El pH del suero alcanzara un valor de 8.5 dos horas después de separarlo del coagulo. A este valor alcalino de pH la FAC comienza a ser destruida. La estabilidad de esta puede prolongarse ajustando el pH. Si la determinación no se realiza el mismo día, es aconsejable añadir 200 ul de tampón acetato acético 5 Molar, pH 5.0 por cada 1 ml de suero. Con este aumento del pH se produce también una degeneración de las proteínas y de los factores de la coagulación, lo que trae como consecuencia un aumento en los valores del tiempo de tromboplastina (TPT) y del tiempo de protrombina (TP). Estos mismos parámetros se verán también afectados si las muestras no son conservadas en refrigeración, por degradación de los factores lábiles (FV-FVII). La glucolisis que ocurre en la sangre total provocara una disminución de la concentración sérica de la glucosa si transcurre mucho tiempo entre la toma de muestra de sangre total y la separación del suero. Las concentraciones disminuyen un 10% dos horas después de estar en contacto el suero con el coagulo. Este mismo efecto provoca aumento de las concentraciones de magnesio, fosforo y potasio (Vives J, Aguilar J. 2006).

A partir del análisis de todo lo antes expuesto, se puede plantear, al igual que otros autores, la necesidad de establecer una interface de comunicación entre médicos y laboratoristas a través de la elaboración de manuales, folletos y consultas de laboratorio, donde se transmitan indicaciones al paciente que será sometido a una investigación. (Vives J, Aguilar J. 2006).

2.3 DEFINICION DE TERMINOS BASICOS.

Calidad de una muestra biológica: representatividad para informar del estado de la persona de la que se obtuvo.

Error de laboratorio: fallo al completar una acción planificada como se deseaba o utilización de un plan incorrecto para alcanzar un objetivo; defecto producido en cualquier parte del ciclo del laboratorio, desde que se solicitan las magnitudes hasta que se informan los resultados y se interpretan.

Espécimen: una o más partes tomadas inicialmente de un sistema. En nuestro caso directamente del paciente.

Etapa preanalítica extralaboratorio: comprende desde que el médico solicita la prueba hasta que el espécimen/muestra llega al laboratorio.

Etapa preanalítica intralaboratorio: comprende desde que el espécimen/muestra llega al laboratorio hasta que se produce el análisis del mismo.

Exactitud: concordancia entre el resultado de una medición y el valor verdadero.

Fase analítica: conjunto de operaciones relacionadas directamente con las mediciones.

Fase preanalítica: conjunto de operaciones que se realizan desde que se recibe la petición analítica hasta que se inicia la fase analítica.

Garantía de calidad: conjunto de actividades planificadas y necesarias para generar confianza de que un producto o servicio cumplirá determinados requisitos de calidad.

Interferencia: desviación clínicamente significativa en la medida de la concentración de un analito, debida al efecto de otro componente o propiedad de la muestra.

Muestra: parte de un espécimen que utilizamos para obtener información de ese paciente. El espécimen es manipulado con el fin específico de aumentar la estabilidad de sus constituyentes o facilitar su manejo.

Protocolo analítico: conjunto de magnitudes biológicas de demostrada efectividad para el diagnóstico, seguimiento y terapéutica de episodios o procesos clínicos bien definidos.

Variabilidad biológica interindividual: fenómeno por el que el valor de las magnitudes biológicas de los individuos pueden ser diferentes entre sí.

Variabilidad biológica intraindividual: fluctuación que sufren los valores de un determinado analito en un mismo individuo. Es el responsable

de que los valores de las magnitudes biológicas de un individuo puedan cambiar de un momento a otro.

2.4 HIPOTESIS Y VARIABLE.

2.4.1 HIPOTESIS.

La variabilidad biológica en las pruebas de laboratorio de pacientes aparentemente sanos se ve afectada por errores en la fase preanalítica incluyendo cambios en la condición preanalítica del paciente.

2.4.2 VARIABLES.

2.4.2.1 VARIABLE INDEPENDIENTE.

Fase preanalítica en las pruebas de laboratorio.

2.4.2.2 VARIABLE DEPENDIENTE.

La Variabilidad Biológica.

2.4.2.3 OPERACIONALIZACION DE VARIABLES.

Variable	Concepto	Categoría	Indicadores	Técnicas e Instrumentos
	Es la variación inherente, fisiológica, que	Bioquímica	Nutricional Biológico Social	

<p>V. dependiente</p> <p>Variabilidad Biológica</p>	<p>se observa en los componentes bioquímicos de los líquidos Biológicos.</p>			
<p>V. Independiente</p> <p>Fase preanalítica en las pruebas de laboratorio.</p>	<p>Los resultados de las pruebas se expresan en una escala de valores basada en un criterio de valoración media obtenidos de la población sana.</p>	<p>Físico Química</p>	<p>Físico Médico</p>	<p>Determinación - Guía de observación.</p>
<p>Glucosa</p>	<p>Es una azúcar elemental a partir del cual el organismo obtiene energía de rápida utilización</p>	<p>Cuantitativa</p>	<p>mg/dl</p>	
<p>Urea</p>	<p>Compuesto químico, principal producto terminal del metabolismo de las proteínas.</p>	<p>Cuantitativa</p>	<p>mg/dl</p>	

Colesterol total	Es un lípido que se encuentra en los tejidos corporales y en plasma sanguíneo	Cuantitativa	mg/dl	
Trigliceridos	Un tipo de lípidos, formados por una molécula de glicerol, que tienen esterificados sus tres grupos hidroxilo por tres ácidos grasos, saturados o insaturados.	Cuantitativa	mg/dl	
Ayuno	No ingerir alimentos en un determinado tiempo	Cuantitativa	Horas	
Horario de toma de muestra	El horario de una toma de muestra para el análisis de una muestra debe de ser en la mañana	Cuantitativa	Hora	

CAPÍTULO 3.

3. MARCO METODOLÓGICO.

3.1 MÉTODO.

Para esta investigación el método que se utilizó es el deductivo – inductivo, con un procedimiento analítico – sintético.

Para la determinación cuantitativa directa de Glucosa, Urea, Colesterol, CK, LDH y Triglicéridos en sueros Humanos, el método a utilizarse es un test enzimático in-vitro, el análisis se lo realizará en dos periodos de tiempo ; el primer día se les extraerá una muestra de sangre a los pacientes que han cumplido con las normas preanalíticas, a este mismo grupo de pacientes luego de un tiempo (1 día) se les extraerá nueva muestra para realizar las mismas pruebas pero para esta ocasión los pacientes vendrán dos horas después de desayunar tiempo en el cual el organismo metaboliza lo ingerido y vuelve a los valores normales, empleando tubos sin anticoagulantes. La extracción del suero se hará centrifugando la sangre a 5.000 rpm durante 10 minutos dentro de la primera hora luego de la extracción de la muestra y se medirá en analizadores automatizados. Luego analizaremos las muestras a través de un estudio estadístico.

El estudio estadístico se lo realizó con una prueba para datos emparejados, la cual nos dice que se debe tomar una muestra aleatoria de pares, de manera que cada observación, esté asociada con alguna observación en particular.

$$\bar{d} = \sum d_i / n \quad \text{media aritmética de las diferencias}$$

$$Sd = \sqrt{\sum (d_i - \bar{d})^2 / n - 1} \quad \text{desviación típica de las observaciones apareadas}$$

$\mu_d = 0$ medias de las diferencias de la población

$$t = \frac{\bar{d} - \mu_d}{Sd / \sqrt{n}} = \frac{\bar{d} - 0}{Sd / \sqrt{n}} = \frac{\bar{d}}{Sd / \sqrt{n}} \quad \text{variante estadística}$$

gl = n-1 grados de libertad, para los grados de libertad ver el valor de "t" en la tabla de los anexos "Proporción de área para la distribución t".

Hipótesis nula (Ho).- Se especifica en forma opuesta a la que se supone cierta. Generalmente se plantea con el propósito de rechazarla y aceptar la de investigación.

Hipótesis alternativa (Ha).- Es cualquier hipótesis que excluya la hipótesis nula, a menudo, es la hipótesis contraria o la negación de Ho.

Ejemplo.

Se quiere estudiar si los valores de la Glucosa de pacientes de 21 a 30 años aparentemente sanos presentan variabilidad biológica por errores en la fase preanalítica incluyendo cambios en la condición preanalítica del paciente.

Ho: Los valores de la Glucosa de pacientes de 21 a 30 años aparentemente sanos no presentan variabilidad biológica por errores en la fase preanalítica incluyendo cambios en la condición preanalítica del paciente.

Ha: Los valores de la Glucosa de pacientes de 21 a 30 años aparentemente sanos presentan variabilidad biológica por errores en la fase preanalítica incluyendo cambios en la condición preanalítica del paciente.

Nro. Caso	Edad (años)	Sexo	C. basales (Xi)	C. Estudio (Yi)	di= Xi-Yi	di- \bar{d}	(di- \bar{d}) ²
1	21	M	103	93	10	10,9	118,81
2	22	M	93	85	8	8,9	79,21
3	21	F	85	81	4	4,9	24,01
4	21	F	78	70	8	8,9	79,21
5	22	F	87	84	3	3,9	15,21
6	22	F	90	91	-1	-0,1	0,01
7	22	F	80	68	12	12,9	166,41
8	23	F	82	87	-5	-4,1	16,81
9	25	F	88	95	-7	-6,1	37,21
10	26	M	81	85	-4	-3,1	9,61
11	26	M	97	101	-4	-3,1	9,61
12	26	F	81	82	-1	-0,1	0,01
13	27	M	81	93	-12	-11,1	123,21
14	27	F	90	98	-8	-7,1	50,41
15	27	F	81	107	-26	-25,1	630,01
16	28	F	81	68	13	13,9	193,21
17	30	F	82	75	7	7,9	62,41
				$\Sigma=$	-3		1615,37

$$\bar{d} = \sum d_i / n = -3 / 17 = -0,176$$

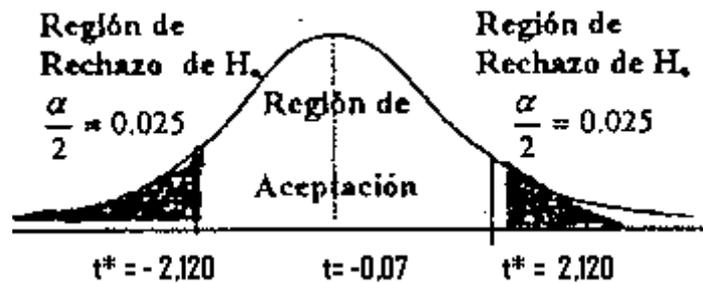
$$Sd = \sqrt{\sum (d_i - \bar{d})^2 / n - 1} = \sqrt{1615,37 / 16} = 10,04$$

$$ad = 0$$

$$\alpha = 0,05 \rightarrow \alpha/2 = 0,025$$

$$t = \frac{\bar{d} - ad}{Sd / \sqrt{n}} = \frac{\bar{d} - 0}{Sd / \sqrt{n}} = \frac{\bar{d}}{Sd / \sqrt{n}} = \frac{-0,176}{10,04 / \sqrt{17}} = -0,07$$

$$gl = n - 1 \rightarrow t = 2,120$$



Decisión: como $t = -0,07$ se ubica dentro de la zona de aceptación y se acepta la hipótesis nula, por lo tanto se concluye que los valores de la Glucosa de pacientes de 21 a 30 años aparentemente sanos no presentan variabilidad biológica por errores en la fase preanalítica incluyendo cambios en la condición preanalítica del paciente.

3.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN.

Para este trabajo se realizara una investigación descriptiva, y se llegará por el alcance a una investigación explicativa.

3.1.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.

Es una investigación de campo, este tipo de investigación se apoya en informaciones que provienen entre otras, de entrevistas, cuestionarios, encuestas y observaciones.

3.1.3 TIPO DE ESTUDIO

Es un estudio prospectivo, el cual posee una característica fundamental, es la de iniciarse con la exposición de una supuesta causa, y luego seguir a través del tiempo a una población determinada hasta determinar o no la aparición del efecto.

3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA.

La población de la presente investigación está constituida por n=50 pacientes atendidos en el Hospital Carlos Andrade Marín de Quito.

3.3 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS.

En la presente investigación se utilizara la Determinación como técnica y como instrumento la Guía de Observación.

3.4 TÉCNICAS PARA EL PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN.

Tabulación.

Cuadros.

Gráficas.

Análisis.

3.4.1 TABULACIÓN, PROCESAMIENTO, Y ANÁLISIS DE DATOS

Nro. Caso	Edad (años)	Sexo	Pruebas	Condiciones basales	Condiciones Estudio
1	21	M	Glucosa	103	93
			Urea	27	24
			colesterol total	172	153
			Triglicéridos	38	62
			CK	82	78,8
			LDH	251	241

2	22	M	Glucosa	93	85
			Urea	34	24
			colesterol total	177	161
			Triglicéridos	107	195
			CK	102,3	99,2
			LDH	223	214
3	21	F	Glucosa	85	81
			Urea	42	39
			colesterol total	157	139
			Triglicéridos	97	160
			CK	70	62,7
			LDH	248	211
4	21	F	glucosa	78	70
			Urea	16	17
			colesterol total	176	180
			Triglicéridos	196	245
			CK	181,3	125,3
			LDH	290	276
5	22	F	glucosa	87	84
			Urea	21	21
			colesterol total	158	156
			Triglicéridos	67	64
			CK	89,1	95
			LDH	293	299
6	22	F	glucosa	90	91
			Urea	38	27
			colesterol total	157	154
			Triglicéridos	56	51
			CK	97,7	96,1
			LDH	317	303
7	22	F	glucosa	80	68
			Urea	27	21
			colesterol total	210	209
			Triglicéridos	63	66
			CK	41,9	43,2
			LDH	329	334
8	23	F	glucosa	82	87
			Urea	30	28
			colesterol total	181	184
			Triglicéridos	67	85
			CK	180,5	676,9

			LDH	285	297
9	25	F	glucosa	88	95
			Urea	22	22
			colesterol total	214	223
			Triglicéridos	222	330
			CK	269,6	67,1
			LDH	292	261
10	26	M	glucosa	81	85
			Urea	28	27
			colesterol total	180	161
			Triglicéridos	91	173
			CK	105,7	118,4
			LDH	215	227
11	26	M	glucosa	97	101
			Urea	22	26
			colesterol total	195	185
			Triglicéridos	135	274
			CK	71,7	71,5
			LDH	235	244
12	26	F	glucosa	81	82
			Urea	29	29
			colesterol total	201	200
			Triglicéridos	49	65
			CK	358,5	436,1
			LDH	410	424
13	27	M	glucosa	81	93
			Urea	28	35
			colesterol total	270	283
			Triglicéridos	422	605
			CK	241,4	212,2
			LDH	558	461
14	27	F	glucosa	90	98
			Urea	23	25
			colesterol total	169	156
			Triglicéridos	198	207
			CK	82,1	66,4
			LDH	268	250
15	27	F	glucosa	81	107
			Urea	25	30
			colesterol total	175	168
			Triglicéridos	61	60

			CK	86,6	77,9
			LDH	295	282
16	28	F	glucosa	81	68
			Urea	17	21
			colesterol total	191	194
			Triglicéridos	70	112
			CK	78,7	128,9
			LDH	254	267
17	30	F	glucosa	82	75
			Urea	14	20
			colesterol total	204	202
			Triglicéridos	94	109
			CK	124,5	95,8
			LDH	305	288
18	33	M	glucosa	92	94
			Urea	32	29
			colesterol total	208	211
			Triglicéridos	144	134
			CK	107,8	95,9
			LDH	342	332
19	32	F	glucosa	85	95
			Urea	24	35
			colesterol total	197	219
			Triglicéridos	81	113
			CK	126,7	126,3
			LDH	343	332
20	34	F	glucosa	79	68
			Urea	14	25
			colesterol total	197	182
			Triglicéridos	89	90
			CK	98	85,2
			LDH	247	258
21	35	F	glucosa	76	56
			Urea	24	30
			colesterol total	192	190
			Triglicéridos	165	130
			CK	88,2	90,6
			LDH	289	303
22	38	M	glucosa	91	92
			Urea	29	33
			colesterol total	235	225

			Triglicéridos	126	134
			CK	217,5	200,3
			LDH	312	318
23	39	M	glucosa	84	74
			Urea	21	29
			colesterol total	155	162
			Triglicéridos	91	142
			CK	67,8	61,7
			LDH	252	236
24	42	M	glucosa	86	100
			Urea	33	39
			colesterol total	186	169
			Triglicéridos	121	262
			CK	66,1	52,3
			LDH	336	296
25	44	M	glucosa	88	103
			Urea	32	35
			colesterol total	214	220
			Triglicéridos	137	161
			CK	835,9	548,9
			LDH	445	453
26	44	F	glucosa	79	84
			Urea	31	39
			colesterol total	198	205
			Triglicéridos	124	303
			CK	93,9	102,9
			LDH	323	328
27	44	F	glucosa	81	115
			Urea	27	26
			colesterol total	193	201
			Triglicéridos	94	109
			CK	168,7	159,6
			LDH	328	324
28	45	F	glucosa	91	91
			Urea	19	27
			colesterol total	188	186
			Triglicéridos	156	175
			CK	164,1	188,3
			LDH	307	297
29	45	F	glucosa	83	66
			Urea	29	34

			colesterol total	265	260
			Triglicéridos	143	248
			CK	63,1	66,8
			LDH	247	248
30	46	F	glucosa	90	98
			Urea	22	39
			colesterol total	236	226
			Triglicéridos	262	241
			CK	86,5	73,4
			LDH	323	280
31	46	F	glucosa	82	92
			Urea	21	24
			colesterol total	191	193
			Triglicéridos	115	119
			CK	91,6	89,4
			LDH	332	318
32	48	F	glucosa	76	90
			Urea	24	21
			colesterol total	217	220
			Triglicéridos	66	97
			CK	65,1	75,6
			LDH	286	294
33	48	F	glucosa	88	102
			Urea	43	35
			colesterol total	140	173
			Triglicéridos	190	407
			CK	74,7	61,9
			LDH	311	306
34	48	F	glucosa	79	96
			Urea	39	39
			colesterol total	271	267
			Triglicéridos	64	98
			CK	80,4	90,2
			LDH	271	247
35	49	M	glucosa	98	129
			Urea	29	35
			colesterol total	260	251
			Triglicéridos	272	361
			CK	399,9	409,3
			LDH	329	350
36	50	M	glucosa	105	127

			Urea	43	41
			colesterol total	221	228
			Triglicéridos	152	322
			CK	92	121,3
			LDH	205	209
37	53	M	glucosa	86	105
			Urea	23	45
			colesterol total	241	222
			Triglicéridos	150	200
			CK	129,2	89,2
			LDH	335	293
38	53	M	glucosa	92	66
			Urea	32	30
			colesterol total	196	215
			Triglicéridos	211	327
			CK	185	198,2
			LDH	295	315
39	50	F	glucosa	91	100
			Urea	27	43
			colesterol total	178	175
			Triglicéridos	136	227
			CK	92,7	106,7
			LDH	321	310
40	50	F	glucosa	100	113
			Urea	38	32
			colesterol total	270	250
			Triglicéridos	127	189
			CK	124,4	156,1
			LDH	353	357
41	51	F	glucosa	85	97
			Urea	28	43
			colesterol total	232	226
			Triglicéridos	150	260
			CK	128,1	148,3
			LDH	362	358
42	51	F	glucosa	82	97
			Urea	30	32
			colesterol total	331	332
			Triglicéridos	386	487
			CK	245,2	237,3
			LDH	410	514

43	52	F	glucosa	124	137
			Urea	22	31
			colesterol total	249	239
			Triglicéridos	168	232
			CK	254	255
			LDH	57,6	51,7
44	53	F	glucosa	110	85
			Urea	28	24
			colesterol total	211	216
			Triglicéridos	225	300
			CK	62,3	72,9
			LDH	328	342
45	54	F	glucosa	91	91
			Urea	38	33
			colesterol total	243	248
			Triglicéridos	113	200
			CK	66	65,7
			LDH	358	375
46	54	F	glucosa	87	83
			Urea	22	25
			colesterol total	241	248
			Triglicéridos	123	185
			CK	90,9	83,8
			LDH	299	303
47	55	F	glucosa	90	83
			Urea	36	34
			colesterol total	212	218
			Triglicéridos	198	321
			CK	88,4	97,2
			LDH	283	294
48	56	M	glucosa	103	108
			Urea	48	36
			colesterol total	173	173
			Triglicéridos	128	202
			CK	139,1	137,2
			LDH	355	377
49	57	M	glucosa	111	114
			Urea	41	35
			colesterol total	211	213
			Triglicéridos	181	389
			CK	96	103,4

			LDH	363	376
50	60	F	glucosa	103	116
			Urea	43	50
			colesterol total	182	169
			Triglicéridos	107	206
			CK	150,4	140,5
			LDH	438	418

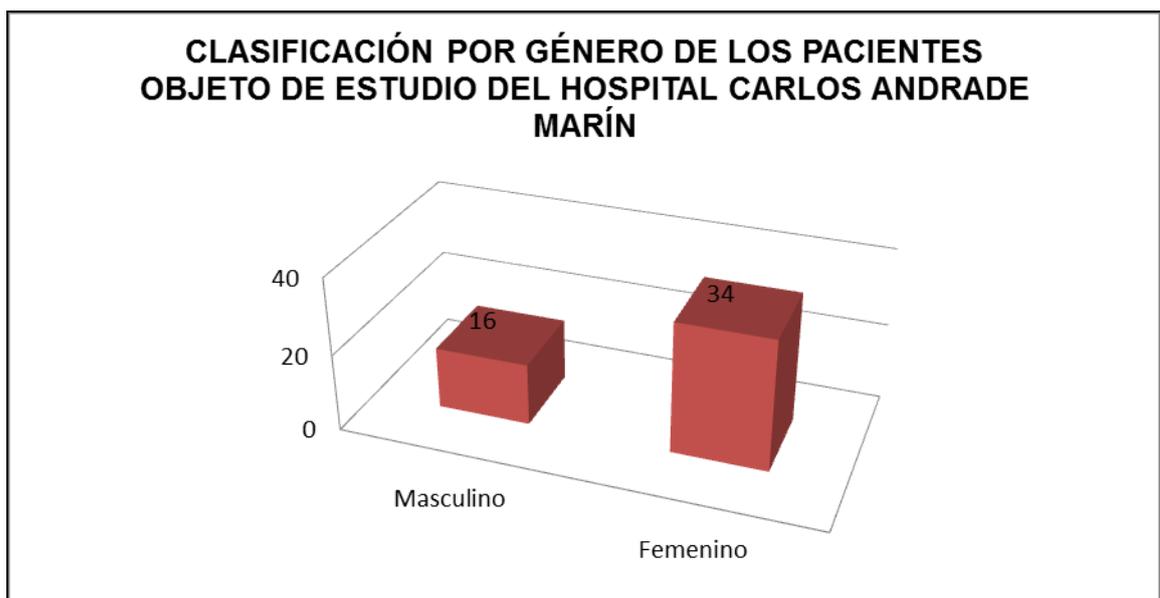
CUADRO # I

CLASIFICACIÓN POR GÉNERO DE LOS PACIENTES OBJETO DE ESTUDIO DEL HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARÍN.

Sexo	Número de pacientes
Masculino	16
Femenino	34

Fuente: Guía de observación del estudio realizado en el Hospital Carlos Andrade Marín.

GRÁFICO # 1



Fuente: Guía de observación del estudio realizado en el Hospital Carlos Andrade Marín.

ANÁLISIS: El 68% de los pacientes objeto de estudio fueron mujeres, mientras que el 32% de los pacientes fueron hombres.

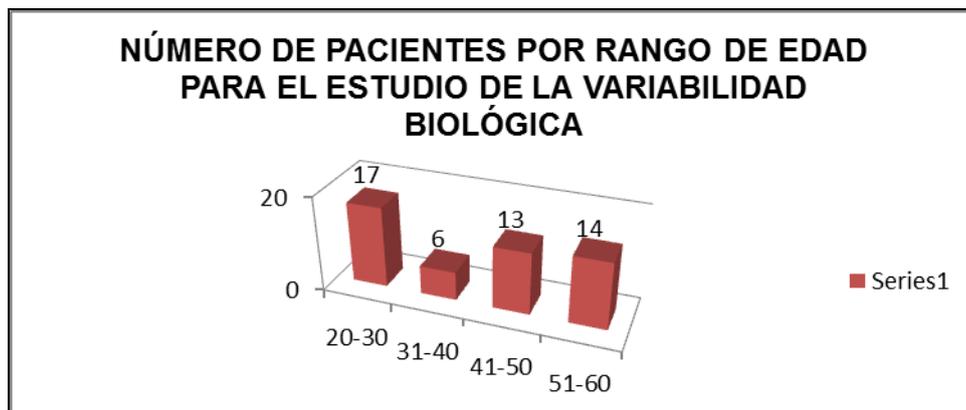
CUADRO # II

NÚMERO DE PACIENTES POR RANGO DE EDAD PARA EL ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD BIOLÓGICA

Edad (años)	Número de pacientes
21-30	17
31-40	6
41-50	13
51-60	14

Fuente: Guía de observación del estudio realizado en el Hospital Carlos Andrade Marín.

GRÁFICO # 2



Fuente: Guía de observación del estudio realizado en el Hospital Carlos Andrade Marín.

ANÁLISIS: El grupo comprendido entre los 20-30 años es el que se encuentra en mayor porcentaje dentro de este estudio con el 34%, con 12% los de 31-40 años, con 26% los de 41-50 y 51-60 años con un 28%,

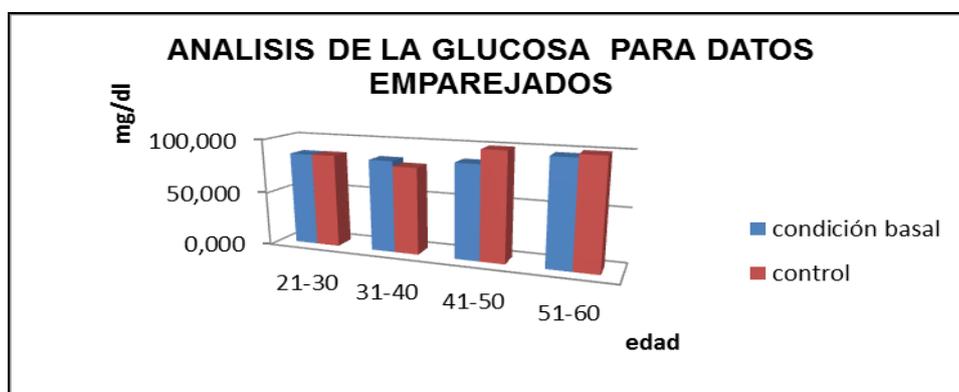
CUADRO # III

ANALISIS DE LA GLUCOSA MEDIANTE UN TEST “T STUDENT” PARA DATOS EMPAREJADOS

Edad (años)	21-30	31-40	41-50	51-60
media dif =	-0,176	4,667	-12,846	-2,857
desvdif =	10,020	10,912	13,025	14,152
n =	17	6	13	14
t =	-0,073	1,048	-3,556	-0,755
t* =	2,120	2,571	2,179	2,160
Decisión	Acepto Ho	Acepto Ho	Rechazo Ho	Acepto Ho

Fuente: Guía de observación del estudio realizado en el Hospital Carlos Andrade Marín.

GRÁFICO # 3



Fuente: Guía de observación del estudio realizado en el Hospital Carlos Andrade Marín.

ANÁLISIS: Como el valor de “t” se ubica en la zona de aceptación en los rangos de edad comprendido entre 21-30,31-40,51-60 años, se determina que no hay una variación significativa en los resultados en condiciones basales como las de control no hay influencia de la dieta o el metabolismo de los pacientes es adecuado, pero en los pacientes entre 41-50 si hay variación significativa por la ingesta de alimentos.

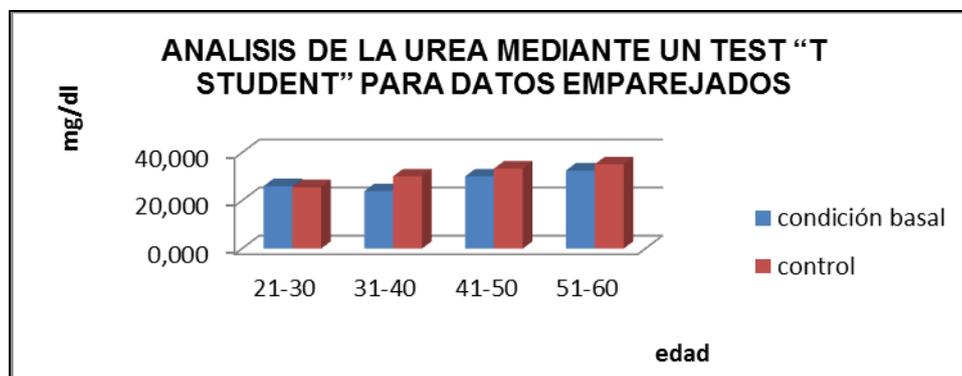
CUADRO # IV

ANÁLISIS DE LA UREA MEDIANTE UN TEST “T STUDENT” PARA DATOS EMPAREJADOS

Edad (años)	21-30	31-40	41-50	51-60
media dif =	0,412	-6,167	-3,231	-2,643
desvdif =	5,149	5,269	6,287	9,904
n =	17	6	13	14
t =	0,330	-2,867	-1,853	-0,998
t* =	2,120	2,571	2,179	2,160
Decisión	Acepto Ho	Rechazo Ho	Acepto Ho	Acepto Ho

Fuente: Guía de observación del estudio realizado en el Hospital Carlos Andrade Marín.

GRÁFICO # 4



Fuente: Guía de observación del estudio realizado en el Hospital Carlos Andrade Marín.

ANÁLISIS: Como el valor de “t” se ubica en la zona de aceptación en los rangos de edad comprendido entre 21-30, 41-50, 51-60 años, se determina que no hay una variación significativa en los resultados en condiciones basales como las de control posiblemente en la ingesta de alimentos la cantidad de proteínas fue mínima, pero en los pacientes entre 31-40 si hay variación significativa posiblemente una dieta rica en proteínas.

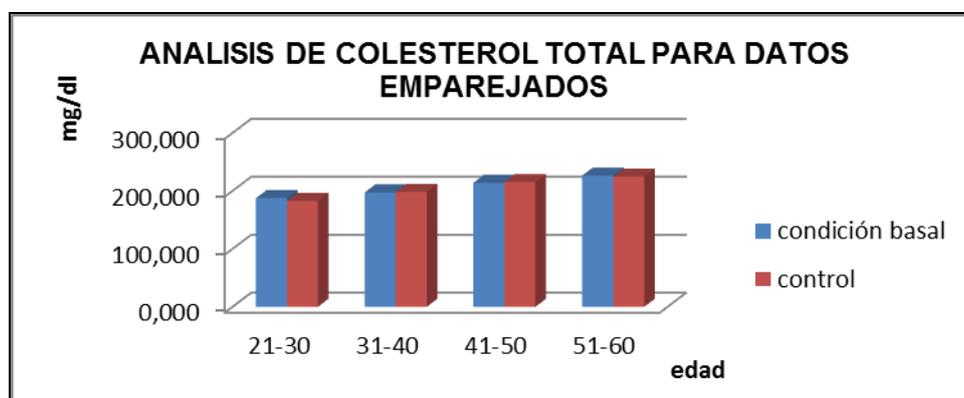
CUADRO # V

ANÁLISIS DEL COLESTEROL TOTAL MEDIANTE UN TEST “T STUDENT” PARA DATOS EMPAREJADOS

Edad (años)	21-30	31-40	41-50	51-60
media dif =	4,647	-0,833	-1,462	1,857
desvdif =	9,861	13,167	12,204	10,841
n =	17	6	13	14
t =	1,943	-0,155	-0,432	0,641
t* =	2,120	2,571	2,179	2,160
Decisión	Acepto Ho	Acepto Ho	Acepto Ho	Acepto Ho

Fuente: Guía de observación del estudio realizado en el Hospital Carlos Andrade Marín.

GRÁFICO # 5



Fuente: Guía de observación del estudio realizado en el Hospital Carlos Andrade Marín.

ANÁLISIS: Como el valor de “t” se ubica en la zona de aceptación en los rangos de edad comprendido entre 21-30, 31-40, 41-50, 51-60 años, se determina que no hay una variación significativa en los resultados en condiciones basales como las de control porque la ingesta de alimentos fue mínima, ayudado por un buen metabolismo y ejercicio.

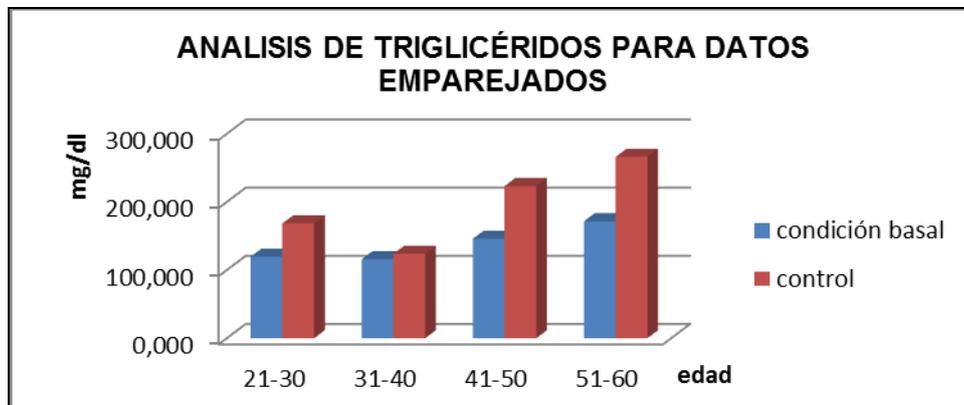
CUADRO # VI

ANÁLISIS DE TRIGLICÉRIDOS MEDIANTE UN TEST “T STUDENT” PARA DATOS EMPAREJADOS

Edad (años)	21-30	31-40	41-50	51-60
media dif =	-48,824	-7,833	-77,462	-94,429
desvdif =	54,806	30,486	77,776	39,566
n =	17	6	13	14
t =	-3,673	-0,629	-3,591	-8,930
t* =	2,120	2,571	2,179	2,160
Decisión	Rechazo Ho	Acepto Ho	Rechazo Ho	Rechazo Ho

Fuente: Guía de observación del estudio realizado en el Hospital Carlos Andrade Marín.

GRÁFICO # 6



Fuente: Guía de observación del estudio realizado en el Hospital Carlos Andrade Marín.

ANÁLISIS: Como el valor de “t” se ubica en la zona de aceptación en el rango de edad comprendido entre 31-40 años, se determina que no hay una variación significativa en los resultados en condiciones basales como las de control, pero en los pacientes entre 21-30, 41-50, 51-60 si hay variación significativa posible ingesta de grasas saturadas en la dieta.

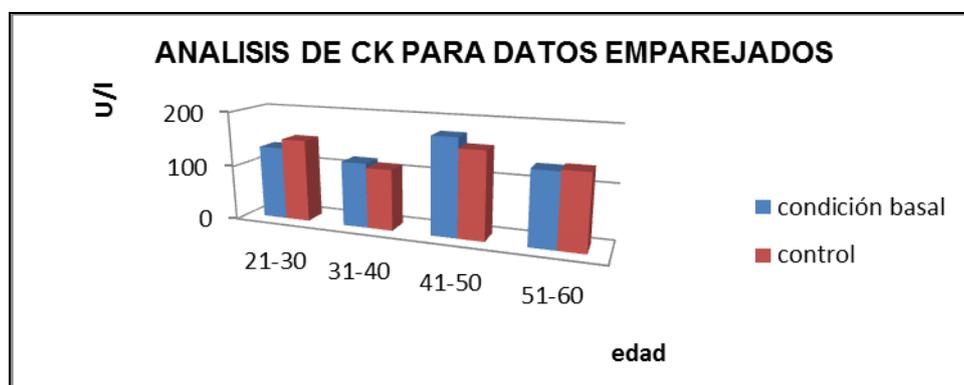
CUADRO # VII

ANÁLISIS DE CK MEDIANTE UN TEST “T STUDENT” PARA DATOS EMPAREJADOS

Edad (años)	21-30	31-40	41-50	51-60
media dif =	-16,935	7,667	18,623	-2,843
desvdif =	136,128	7,639	81,806	16,939
n =	17	6	13	14
t =	-0,513	2,458	0,821	-0,628
t* =	2,120	2,571	2,179	2,160
Decisión	Acepto Ho	Acepto Ho	Acepto Ho	Acepto Ho

Fuente: Guía de observación del estudio realizado en el Hospital Carlos Andrade Marín.

GRÁFICO # 7



Fuente: Guía de observación del estudio realizado en el Hospital Carlos Andrade Marín.

ANÁLISIS: Como el valor de “t” se ubica en la zona de aceptación en los rangos de edad comprendido entre 21-30, 31-40, 41-50, 51-60 años, se determina que no hay una variación significativa en los resultados en condiciones basales como las de control posiblemente no se realizó ningún esfuerzo físico intenso, una posibilidad el sedentarismo .

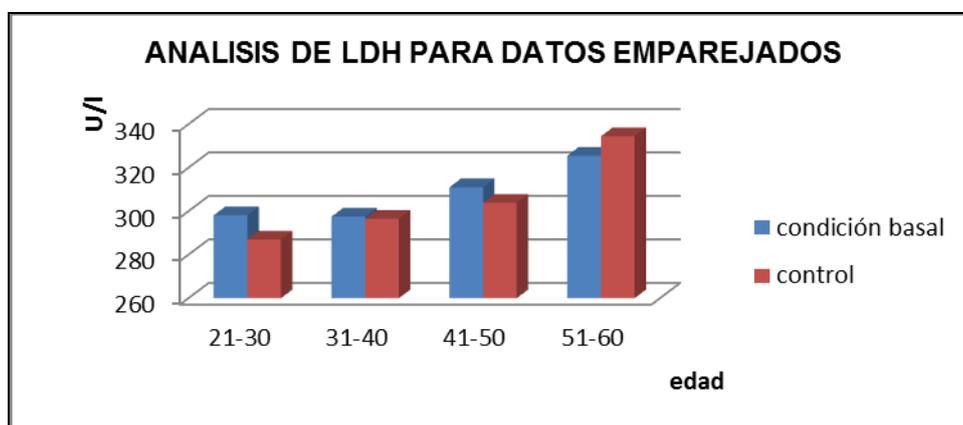
CUADRO # VIII

ANÁLISIS DE LDH MEDIANTE UN TEST “T STUDENT” PARA DATOS EMPAREJADOS

Edad (años)	21-30	31-40	41-50	51-60
media dif =	11,118	1,000	7,154	-9,007
desvdif =	27,143	12,837	18,947	32,471
n =	17	6	13	14
t =	1,689	0,191	1,361	-1,038
t* =	2,120	2,571	2,179	2,160
Decisión	Acepto Ho	Acepto Ho	Acepto Ho	Acepto Ho

Fuente: Guía de observación del estudio realizado en el Hospital Carlos Andrade Marín.

GRÁFICO # 8



Fuente: Guía de observación del estudio realizado en el Hospital Carlos Andrade Marín.

ANÁLISIS: Como el valor de “t” se ubica en la zona de aceptación en los rangos de edad comprendido entre 21-30, 31-40, 41-50, 51-60 años, se determina que no hay una variación significativa en los resultados en condiciones basales como las de control, para la determinación de esta prueba no es necesario estar en ayunas.

CAPÍTULO 4.

4.1 CONCLUSIONES.

Al finalizar la presente investigación se concluye que:

- Que las pruebas de Colesterol total con el 100%, LDH con el 100% y CK con el 100% del total de las muestras del estudio, no presentaron variabilidad significativa en condiciones basales y de estudio, por tal razón para estas pruebas no es necesario estar en ayunas.
- Mientras que las pruebas de Glucosa con el 75%, Urea con el 75%, Triglicéridos con el 25%, no presentaron variabilidad significativa en condiciones basales y de estudio, en quienes la ingesta de alimentos pudo ser mínima al igual que el ejercicio físico, otra condición que puede influir es un buen metabolismo.
- Las pruebas Glucosa con el 25%, Urea con el 25%, Triglicéridos con el 75% del total de las muestras del estudio si presentaron variabilidad en los resultados una vez hecho el respectivo análisis, influenciado principalmente por la ingesta de alimentos y el ejercicio físico realizado, implicando que estos valores no serían confiables para el Médico, para estas pruebas es preciso estar en ayunas.
- Los factores no modificables como son la edad, el sexo, la raza, el embarazo y el ciclo menstrual, se deben tener en cuenta en el momento de indicar un resultado de laboratorio, pues hay parámetros que varían lo cual puede provocar variaciones en algunos parámetros como glicemia, colesterol, triglicéridos, amilasa, lipasa y entre otros.

4.2 RECOMENDACIONES.

- Dar a conocer al paciente como se va a realizar la toma de muestra y así efectuar una buena extracción sanguínea para obtener la cantidad de muestra apropiada y conseguir resultados confiables e interpretación de los mismos.
- Debido a que los analizadores automatizados conducen a una determinación rápida y reproducible, la automatización no elimina los problemas de dilución de las muestras y la estandarización del equipo para ello se recomienda efectuar diariamente la calibración del equipo utilizando muestras control bajo, normal y alto para obtener resultados reales para su posterior interpretación y análisis por parte del personal médico.
- Se requiere una comunicación más frecuente entre el médico y el laboratorio y viceversa.
- Finalmente si existe la más mínima duda de los valores obtenidos ya sea por cualquiera de los métodos manuales o automatizado es aconsejable repetir la prueba o a su vez optar por otro método de equivalente confiabilidad.

4.3 BIBLIOGRAFIA

1. ÁLVARO, Francisco; El error en las pruebas de Diagnóstico Clínico. 1ra. ed. Madrid: Díaz de Santos; 2002. pp. 49 - 50.
2. BALLCELLS, Alfonso; La clínica y el laboratorio 18ª Edición, Editorial Masson, México, 2001.
3. BLASETTI, Adriana; Tratado de Medicina Crítica y Terapia Intensiva. 4ta. ed. Madrid España; Panamericana; 2002. pp. 155-160.
4. BOXACA, Martha; Medicina Interna. 2da. ed. Philadelphia - Pensylvania: Panamericana; 1992. pp. 939 - 960.
5. DESKA, Kathleen; Guía de Pruebas Diagnósticas y de Laboratorio. 8va. ed. España: Elsevier Mosbi; 2009. pp. 227 - 235.
6. FERNÁNDEZ Camilo; Gestión de Calidad en el Laboratorio Clínico. 1ra. ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2005. pp. 410 - 426.
7. GONZÁLEZ, Álvaro; Bioquímica Clínica y Patología Molecular. España: Graficas Muriel; 2010. pp. 3-13.
8. GONZÁLEZ, José; Técnicas y Métodos de Laboratorio Clínico. 2da. ed. Barcelona: Masson; 2005. pp. 95 - 117.
9. KRONENBERG Henry; Tratado de Endocrinología. 11ava. ed. Barcelona España: Eicevier Saunders; 2009. pp. 234 - 237.
10. MATAMOROS, Anita; Manual de Procedimientos de Laboratorio en Bioquímica Clínica y Control de Calidad: Editorial Litografía Nicaragüense (LITONIC), Managua – Nicaragua, 2004
11. MORENO, Esteban; Diagnóstico y Tratamiento en Enfermedades Metabólicas. 1ra. ed. Madrid: Díaz de Santos; 1997. pp. 207-215.
12. PÉREZ José. Manual de Patología General. 6ta. ed. Barcelona España: Masson; 2006. pp. 344-345.
13. REVERTÉ, Devlin; Bioquímica, 4ª edición, Barcelona; 2007.
14. SUARDÍAZ, Jorge; Laboratorio Clínico, Editorial Ciencias Médicas, La Habana - Cuba, 2004.

15. VENTURA, Salvador; Principios de Preanalítica en Atención Primaria. 1ra. ed. Madrid: Visión Libros; 2007. pp. 30-40.
16. VIVES, Joan; Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología. 3ra. ed. España: Masson; 2006. pp. 29 - 54.
17. www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/cholesterol.html
18. <http://www.geosalud.com/Nutricion/trigliceridos.htm>
19. <http://www.postpoliomexico.org/CPK/LaCPK.htm>
20. http://es.wikipedia.org/wiki/Lactato_deshidrogenasa
21. http://www.medicentro.com.co/lab-clinico/analisis/f_z/TSH.html

4.4 ANEXOS

ANEXO 1

DETERMINACIÓN DE LA VARIABILIDAD BIOLÓGICA EN LAS PRUEBAS DE LABORATORIO EN EL ÁREA DE QUÍMICA SANGUÍNEA DEL HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARIN DE LA CIUDAD DE QUITO

Quito,.....

Yo.....con

C.I.....

Doy mi consentimiento para que los datos que se obtengan en el estudio de mis especímenes sean utilizados en la investigación del hospital Carlos Andrade Marín de Quito, los investigadores me han explicado que no corre peligro mi vida y que puedo retirarme de este estudio cuando yo creyere conveniente.

.....

Firma

ANEXO 2

DETERMINACIÓN DE LA VARIABILIDAD BIOLÓGICA EN LAS PRUEBAS DE LABORATORIO EN EL ÁREA DE QUÍMICA SANGUÍNEA DEL HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARIN DE LA CIUDAD DE QUITO

1.- DATOS GENERALES:

Nombre _____ Edad: _____

Fecha: _____ Historia Clínica N°: _____

Teléfono: _____ Dirección: _____

CASO No. _____

2.- DATOS CLÍNICOS:

SE ENCUENTRA EN AYUNO DE 8 - 12 HORAS

SI: NO:

ESTA DENTRO DEL HORARIO ADECUADO PARA TOMAR UNA MUESTRA DE LABORATORIO

SI: NO:

3.- DATOS DE LABORATORIO:

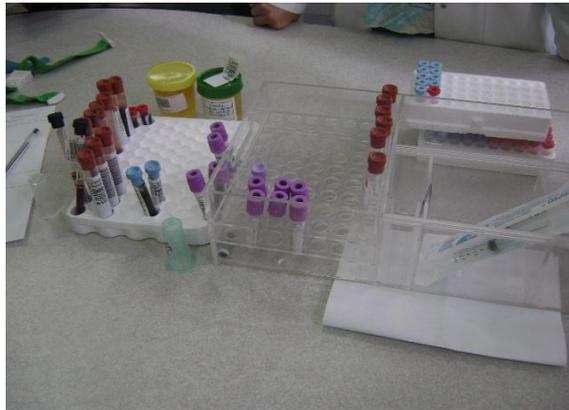
VARIABLES	BASALES (HORA)	CONTROL (HORA)
GLUCOSA		
UREA		
COLESTEROL TOTAL		
TRIGUCERIDOS		
TSH		
LDH		
CK		
Fecha:		

REALIZADO POR:.....

ANEXO 3

LABORATORIO CLÍNICO

AREA TE TOMA DE MUESTRA



TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS



CENTRIFUGACION DE LAS MUESTRAS





ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS



EQUIPO DE QUIMICA SANGUÍNEA "HITACHI"



● Estuche adecuado para el analizador Roche/Hitachi respectivo

Ref.	Frasco	Contenido	902	912	917	MODULAR	
						P	D
11491253 216	1	REAGENT 12 x 66 mL			●	●	
11929526 216	1	REAGENT 6 x 258 mL				●	●
11448668 216	1	REAGENT 18 x 50 mL	●	●			
11448676 216	1	REAGENT 10 x 100 mL		●			

Algunos estuches y analizadores no están disponibles en todos los países. Para otras metodías específicas, diríjase al representante de Roche Diagnostics en su país.

Español

Información del sistema

Analizadores Roche/Hitachi 912/917/MODULAR: ACN 525.

Disponible a demanda: Analizador Roche/Hitachi 912:

ACN 526 (aplicación R2).

Uso previsto

Test enzimático in vitro para la determinación cuantitativa de glucosa en suero, plasma y LCR humanos en analizadores Roche de química clínica.

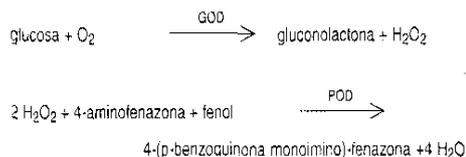
Generalidades^{1,2,3}

Los hidratos de carbono suministran glucosa al organismo. Ésta constituye el monosacárido de mayor importancia en la sangre, donde su concentración posprandial alcanza los 5 mmol/L. Como sustrato, la glucosa es un proveedor indispensable de energía que garantiza las funciones celulares. La degradación de la glucosa es denominada glucólisis. La determinación de la glucosa se emplea en el diagnóstico y seguimiento de trastornos en el metabolismo de los hidratos de carbono como la diabetes mellitus, la hipoglucemia neonatal, la hipoglucemia idiopática y el nesidioblastoma. Este método GOD-PAP modificado se basa en una publicación de Trinder del año 1969.

Principio del test³

Prueba enzimática colorimétrica

- Muestra, adición de R1 e inicio de la reacción:



Debido al oxígeno del aire, la glucosa se oxida a gluconolactona bajo la acción de la glucosa oxidasa (GOD). Se forma peróxido de hidrógeno que, en presencia de la peroxidasa (POD), oxida la 4-aminofenazona y el fenol a 4-(p-benzoquinona monooxímino)-fenazona. La intensidad del colorante es directamente proporcional a la concentración de glucosa que se mide fotométricamente.

Reactivos – Soluciones de trabajo

R1 Tampón fosfato: 200 mmol/L, pH 7,5; GOD (microorganismos) $\geq 183 \mu\text{kat/L}$; POD (peroxidasa de rábano picante) $\geq 0,33 \mu\text{kat/L}$; 4-aminofenazona: 0,77 mmol/L; fenol: 11 mmol/L

Medidas de precaución y advertencias

Para el uso diagnóstico in vitro

Observar las medidas de precaución usuales para la manipulación de reactivos.

Ficha de datos de seguridad a la disposición del usuario profesional que la solicite.

Eliminar los residuos según las normas locales vigentes.

Preparación de los reactivos

R1: El contenido está listo para el uso.

Conservación y estabilidad

Sin abrir, a 2-8 °C: hasta la fecha de caducidad indicada.

R1: abierto y refrigerado en el analizador, 28 días.

Obtención y preparación de las muestras

Emplear únicamente tubos o recipientes adecuados para recoger y preparar las muestras.

Sólo se han analizado y encontrado aptas las muestras aquí mencionadas.

Suero

Plasma: Tratado con heparina o EDTA.

Estabilidad (sin hemólisis):⁴ 8 horas a 15-25 °C

Plasma con fluoruro 72 horas a 2-8 °C

Estabilidad:⁵ 3 días a 15-25 °C

Plasma con yodoacetato

Estabilidad:⁴ 24 horas a 15-25 °C

Recoger la sangre por punción venosa con un sistema de tubos de vacío en individuos que estén en ayunas. La estabilidad de la glucosa en las muestras depende de la temperatura de almacenamiento, de la contaminación bacteriana y la glucólisis. Separe las muestras de plasma o suero sin conservante (NaF) de las células o el coágulo dentro del lapso de media hora tras su extracción. Si la sangre se deja coagular tras su extracción y reposar sin ser centrifugada a temperatura ambiente, la glucosa en suero disminuye en una tasa promedio de ~7 % por hora (0,28-0,56 mmol/L ó 5-10 mg/dL). Esta reducción se debe a la glucólisis. La glucólisis puede ser inhibida recogiendo la muestra en tubos con fluoruro.⁶

Los diferentes tipos de muestra fueron analizados en tubos de recogida de muestras seleccionados, comercialmente disponibles en aquel momento, lo cual significa que no fueron analizados todos los tubos de todos los fabricantes. Los sistemas de recogida de muestras de diversos fabricantes pueden contener diferentes materiales que en ciertos casos pueden llegar a afectar los resultados de los análisis. Si las muestras se procesan en tubos primarios (sistemas de recogida de muestras), seguir las instrucciones del fabricante de los tubos.

LCR

El líquido cefalorraquídeo puede contener bacterias u otros componentes celulares. Por esta razón, las muestras de LCR destinadas a la determinación de glucosa deben analizarse inmediatamente o conservarse a 4 °C o -20 °C.^{7,8}

Las muestras que contienen precipitado deben centrifugarse antes de efectuar el test.

Material suministrado

Consultar la sección "Reactivos – Soluciones de trabajo" en cuanto a los reactivos suministrados.

GLU

Glucosa GOD-PAP

cobas®

Material requerido (no suministrado)

- Calibrador: C.f.a.s. (Calibrator for automated systems). Ref. 10759350 190, 10759350 360 (para los EE.UU.);
- Controles: Precinorm U, p.ej. Ref. 10171743 122, Precinorm U plus, Ref. 12149435 122, 12149435 160 (para los EE.UU.); Precipath U, p.ej. Ref. 10171778 122, Precipath U plus, Ref. 12149443 122, 12149443 160 (para los EE.UU.);
- NaCl al 0,9 %
- Equipo usual de laboratorio

Ejecución del test

Para un funcionamiento óptimo del test, observar las instrucciones de la presente metodología referentes al analizador empleado. Consultar el manual del operador del analizador en cuanto a las instrucciones específicas de ensayo. Roche no se responsabiliza del funcionamiento de las aplicaciones no validadas por la empresa. En su caso, el usuario se hace cargo de su definición.

Calibración

Trazabilidad: El presente método ha sido estandarizado frente a espectrometría de masa por dilución de isótopo.

S1: NaCl al 0,9 %

S2: C.f.a.s.

Frecuencia de calibraciones

Se recomienda efectuar la recalibración en los siguientes casos:

- calibración en blanco, cada 24 horas
- calibración a 2 puntos, tras cambiar de lote de reactivo
- calibración en blanco, tras cambiar el frasco de reactivos
- calibración a 2 puntos, si así lo requiere el control de calidad

Control de calidad

Para el control de calidad, emplear el material de control indicado en la sección "Material requerido". Puede emplearse también otro material de control apropiado.

Los intervalos y límites del control han de adaptarse a los requisitos individuales del laboratorio. Los valores deben situarse dentro de los límites establecidos. Cada laboratorio debería establecer mediciones correctivas en caso de obtener valores fuera del intervalo preestablecido.

Sírvase cumplir con las regulaciones gubernamentales y las normas locales de control de calidad pertinentes.

Cálculo

El analizador calcula automáticamente la concentración del analito en cada muestra.

Factor de conversión: mg/dL x 0,0555 = mmol/L

Limitaciones - Interferencias

Criterio: Recuperación dentro de $\pm 10\%$ del valor inicial.

Ictericia: Sin interferencias significativas hasta un índice I de 22 para la bilirrubina conjugada y hasta un índice I de 20 para la bilirrubina sin conjugar (concentración aproximada de bilirrubina conjugada: 22 mg/dL ó 376 $\mu\text{mol/L}$; concentración aproximada de bilirrubina sin conjugar: 20 mg/dL ó 342 $\mu\text{mol/L}$).⁹

Hemólisis: Sin interferencias significativas hasta un índice H de 850 (concentración aproximada de hemoglobina: 850 mg/dL ó 528 $\mu\text{mol/L}$).⁹

Lipemia (Intralipid): Sin interferencias significativas hasta el índice L de 150.⁹ Existe una mínima correlación entre el índice L (correspondiente a la turbidez) y la concentración de triglicéridos.

En casos muy raros pueden obtenerse resultados falsos debidos a la gammopatía, particularmente del tipo IgM (macroglubulinemia de Waldenstroem).

Los valores de glucosa obtenidos en ciertos materiales de análisis, al ser comparados con un método de glucosa oxidasa con electrodo de oxígeno, demostraron tener una desviación positiva promedio del 3 %.

Para el diagnóstico, los resultados siempre deben interpretarse teniendo en cuenta la anamnesis del paciente, el análisis clínico y los resultados de otros exámenes.

ACCIÓN REQUERIDA

Programa especial de lavado: Los pasos de lavado especial se aplican cuando ciertos tests se utilizan conjuntamente de forma combinada en los analizadores Roche/Hitachi. Las combinaciones de tests que requieren pasos de lavado adicional pueden consultarse en la versión más actual de las listas de "Lavados Adicionales" destinadas a evitar la contaminación por arrastre y en el manual del operador. En los EE.UU., sírvase consultar el documento de programación de lavado especial (en la página web MyLabOnline) y el manual del operador para obtener las instrucciones pertinentes. **En caso de que sea necesario, implemente el lavado especial para evitar la contaminación por arrastre antes de comunicar los resultados del test.**

Intervalo de medición

Intervalo de medición: 0,11-25 mmol/L (2-450 mg/dL).

Analizador Roche/Hitachi 912

Determinar las muestras con concentraciones superiores por la función de repetición del ciclo. La dilución automática de las muestras por la función de repetición del ciclo es de 1:3. Los resultados de las muestras diluidas por la función de repetición del ciclo se multiplican automáticamente por el factor 3. Analizadores Roche/Hitachi 917/MODULAR P

Determinar las muestras con concentraciones superiores por la función de repetición del ciclo. La dilución automática de las muestras por la función de repetición del ciclo es de 1:3,14. Los resultados de las muestras diluidas por la función de repetición del ciclo se multiplican automáticamente por el factor 3,14. En analizadores sin función de repetición, las muestras con una actividad superior se diluyen manualmente con una solución de cloruro sódico al 0,9 % o con agua destilada o desionizada (p.ej. 1 + 2). El resultado se multiplica por el factor de dilución correspondiente (p.ej. 3).

Límites inferiores de medición

Límite inferior de detección

Límite de detección: 0,11 mmol/L (2 mg/dL)

El límite inferior de detección equivale a la menor concentración medible de analito que puede distinguirse de cero. Se calcula como el valor situado a tres desviaciones estándar por encima del estándar más bajo (estándar $1 + 3\text{ DE}$, repetibilidad, $n = 21$).

Valores teóricos²

Plasma (en ayuno)

4,11-6,05 mmol/L (74-109 mg/dL)

Intervalo de referencia según Tietz³

Suero/plasma

Adultos: 4,11-5,89 mmol/L ó 74-106 mg/dL

60-90 años: 4,56-6,38 mmol/L ó 82-115 mg/dL

> 90 años: 4,16-6,72 mmol/L ó 75-121 mg/dL

Niños: 3,33-5,55 mmol/L ó 60-100 mg/dL

Neonatos:

1 día: 2,22-3,33 mmol/L ó 40-60 mg/dL

> 1 día: 2,78-4,44 mmol/L ó 50-80 mg/dL

Cada laboratorio debería comprobar si los intervalos de referencia pueden aplicarse a su colectivo de pacientes y, en caso necesario, establecer sus propios intervalos de referencia.

Datos específicos de funcionamiento del test

A continuación, se indican los datos representativos de funcionamiento obtenidos en los analizadores. Los resultados de cada laboratorio en particular pueden diferir de estos valores.

GLU

Glucosa GOD-PAP

Precisión

La precisión ha sido determinada mediante muestras humanas y controles según un protocolo interno. Repetibilidad (n = 21), precisión intermedia (3 alicuotas por serie, 1 serie por día, 21 días). Se han obtenido los siguientes resultados:

Muestra	Repetibilidad*			Precisión intermedia**		
	VM mg/dL	CV mmol/L	%	VM mg/dL	CV mmol/L	%
Suero humano	116	6,44	0,9	124	6,88	1,8
Precinorm U	121	6,72	0,8	118	6,55	2,1
Precipath U	256	14,2	0,7	249	13,8	1,9

* repetibilidad = precisión intraserie

** precisión intermedia = precisión total/precisión interensayo/precisión día a día

Comparación de métodos

La comparación efectuada entre el test de glucosa con el test de Roche Glucose GOD-PAP en los analizadores Roche/Hitachi MODULAR P (y) y 917 (x) proporcionó la siguiente correlación (mg/dL):

$$\begin{aligned} \text{Passing/Bablok}^{\text{10}} & \quad \text{Regresión lineal} \\ y = 0,998x - 0,198 & \quad y = 0,998x - 0,232 \\ r = 0,976 & \quad r = 0,999 \end{aligned}$$

Cantidad de muestras de suero humano medidas: 167

La concentración de las muestras se situó entre 60-371 mg/dL (3,33-20,6 mmol/L).

Referencias bibliográficas

- Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag, 1995.
- Thomas L. Blutglucose. In Thomas L, ed. Labor und Diagnose, 6th ed. Frankfurt/Main: TH-Books, 2005;193-99.
- Trinder P. Determination of Glucose in Blood using Glucose Oxidase with an alternative oxygen acceptor. Ann Clin Biochem 1969;6:24-27.
- Tietz NW, ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Company, 1995;268-273.
- Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 6th ed., Saunders Elsevier 2008, 389.
- Sacks DB. Carbohydrates. En: Tietz NW, ed. Fundamentals of Clinical Chemistry, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders 1996;351-374.
- Sacks DB. Carbohydrates. En: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders 1999;750-785.
- Tietz NW, ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 4th ed. Philadelphia. WB Saunders Company, 2006;444-451.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
- Passing H, Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

Programación del analizador**Usuarios estadounidenses**

Sírvase consultar la ficha de aplicación y el documento de programación de lavado especial (localizado en la página web MyLabOnline) para obtener información adicional.

Usuarios de los analizadores Roche/Hitachi 912, 917 y MODULAR

Introducir los parámetros de aplicación del disquete de aplicación o de la ficha de código de barras, según corresponda.

cobas®**Analizador Roche/Hitachi 902**

No.	<Chemistry>	
1	Test Name	GLU
2	Assay Code (Mthd)	1 Punto
3	Assay Code (2. Test)	0
4	Reaction Time	10
5	Assay Point 1	35
6	Assay Point 2	0
7	Assay Point 3	0
8	Assay Point 4	0
9	Wavelength (SUB)	700
10	Wavelength (MAIN)	505
11	Sample Volume	3.0
12	R1 Volume	300
13	R1 Pos.
14	R1 Bottle Size	Large
15	R2 Volume	0
16	R2 Pos.	0
17	R2 Bottle Size	Small
18	R3 Volume	0
19	R3 Pos.	0
20	R3 Bottle Size	Small
21	Calib. Type (Type)	Linear
22	Calib. Type (Wght)	0
23	Calib. Conc. 1	0.0
24	Calib. Pos. 1
25	Calib. Conc. 2
26	Calib. Pos. 2
27	Calib. Conc. 3	0
28	Calib. Pos. 3	0
29	Calib. Conc. 4	0
30	Calib. Pos. 4	0
31	Calib. Conc. 5	0
32	Calib. Pos. 5	0
33	Calib. Conc. 6	0
34	Calib. Pos. 6	0
35	S1 ABS	0
36	K Factor	10000
37	K2 Factor	10000
38	K3 Factor	10000
39	K4 Factor	10000
40	K5 Factor	10000
41	A Factor	0
42	B Factor	0
43	C Factor	0
44	SD Limit	0.1
45	Duplicate Limit	340
46	Sens. Limit	3200
47	S1 Abs. Limit (L)	-32000
48	S1 Abs. Limit (H)	32000
49	Abs. Limit	0
50	Abs. Limit (D/I)	Increase
51	Prozone Limit	0
52	Proz. Limit (Upp/Low)	Lower
53	Prozone (Endpoint)	35
54	Expect. Value (L)
55	Expect. Value (H)
56	Instr. Fact. (a)	1
57	Instr. Fact. (b)	0
58	Key setting

..... a introducir por el operador

Para más información acerca de los componentes necesarios, sírvase consultar el manual del operador del analizador correspondiente, las fichas de aplicación respectivas, la información de producto y las metodicas.

UREA/BUN

Test cinético UV para urea o nitrógeno ureico

cobas[®]

● Estuche adecuado para el analizador Roche/Hitachi respectivo

Ref.	Frasco	Contenido	902	912	917	MODULAR	
						P	D
11729691 216	1	REAGENT 6 x 66 mL			●	●	
	2	REAGENT 6 x 43 mL					
11929470 216	1	REAGENT 6 x 186 mL				●	
11929488 216	2	REAGENT 6 x 118 mL					●
11929496 216	1	REAGENT 4 x 470 mL					●
11929500 216	2	REAGENT 4 x 293 mL					
11489364 216	1	REAGENT 6 x 40 mL	●	●			
	2	REAGENT 3 x 49 mL					
11489321 216	1	REAGENT 6 x 82 mL		●			
	2	REAGENT 3 x 100 mL					

Algunos estuches y analizadores no están disponibles en todos los países. Sírvase consultar al representante local de Roche Diagnostics en cuanto a aplicaciones adicionales.

Español

Información del sistema

Analizadores Roche/Hitachi 912: Urea ACN 418, ACN 419.

Analizador Roche/Hitachi 912: Si utiliza el número ACN 418 adhiera al frasco 2 una de las etiquetas R3 adjuntas.

Analizador Roche/Hitachi 917: Urea ACN 418, ACN 419 (suero/plasma); ACN 470, ACN 472 (orina).

Analizadores Roche/Hitachi MODULAR P/MODULAR D:

Urea ACN 418, ACN 419; BUN ACN 421, ACN 427.

Para los EE.UU.:

Analizador Roche/Hitachi 902: código EE.UU. 218.

Analizadores Roche/Hitachi 912: código EE.UU. 427.

Analizador Roche/Hitachi 917: códigos EE.UU. 427, 428, 429.

Analizadores Roche/Hitachi MODULAR P/MODULAR D: código EE.UU. 427.

Uso previsto

Prueba enzimática in vitro para la determinación cuantitativa de la urea y el nitrógeno ureico en muestras humanas de suero, plasma y orina en analizadores automáticos Roche de química clínica.

Generalidades^{1,2,3,4,5,6,7,8,9}

La determinación de la urea constituye uno de los análisis más usuales destinados a evaluar la función renal. El test se emplea frecuentemente junto a la determinación de creatinina y sirve para el diagnóstico diferencial de la hipernuremia prerrenal (insuficiencia cardíaca, excreción de orina, catabolismo proteico elevado), renal (glomerulonefritis, riñón policístico, nefrosclerosis, necrosis tubular) y posrenal (obstrucción de las vías urinarias).

La urea es el producto final del metabolismo de las proteínas y de los aminoácidos. En la degradación de las proteínas, éstas se desdoblan a aminoácidos y se desaminan. El amoníaco formado es sintetizado a urea en el hígado, siendo ésta la vía más importante de degradación del exceso de nitrógeno en el organismo humano.

En el año 1913, Marshall desarrolló un test para determinar la urea en sangre por medio de la enzima ureasa. El amoníaco liberado por la ureasa fue determinado por titrimetría. Desde entonces se establecieron otros numerosos métodos para determinar el amoníaco liberado, incluyendo el test de indofenol de Berthelot y la reacción de amoníaco con el reactivo de Nessler. Tanto Fawcett y Scott así como Chaney y Marbach publicaron modificaciones posteriores.

En 1965, Talke y Schubert publicaron un método completamente enzimático para la determinación de la urea empleando el sistema enzimático de ureasa/glutamato-deshidrogenasa (GLDH). El test UREA/BUN de Roche se basa en el método de Talke y Schubert y fue optimizado para su empleo en analizadores automáticos que permiten la medición cinética del punto final. La composición de los reactivos permite una mayor linealidad y estabilidad más prolongada.

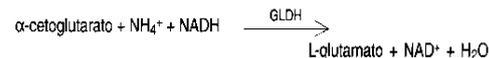
Principio de test

Test UV cinético

- Muestra y adición de R1
- Adición de R2 e inicio de la reacción:
La urea es hidrolizada por la ureasa a CO₃²⁻ y amoníaco.



A continuación, el amoníaco formado reacciona con el α-cetoglutarato y el NADH bajo la acción de la GLDH para obtener glutamato y NAD⁺.



La reducción de la absorbancia debida al consumo del NADH se mide cinéticamente.

Reactivos – Soluciones de trabajo

R1 Tampón CAPSO^a: 5 mmol/L, pH 9,65; NADH (levadura) ≥ 0,23 mmol/L; conservante

R2 Tampón BICIN^b: 1.000 mmol/L, pH 7,6; ureasa (Canavalia ensiformis) ≥ 120 μkat/L; GLDH (hígado bovino) ≥ 15,0 μkat/L; α-cetoglutarato ≥ 8,3 mmol/L; conservante

a) Tampón CAPSO = ácido 3-(ciclohexilamino)-2-hidroxi-1-propanosulfónico.

b) BICIN = N,N-Bis(2-hidroxiethyl)-glicina

Medidas de precaución y advertencias

Para el uso diagnóstico in vitro

Observar las medidas de precaución usuales para la manipulación de reactivos. Ficha de datos de seguridad a la disposición del usuario profesional que la solicite.

Eliminar los residuos según las normas locales vigentes.

Preparación de los reactivos

R1: El contenido está listo para el uso.

R2: El contenido está listo para el uso.

Conservación y estabilidad

Sin abrir, a 2-8 °C: hasta la fecha de caducidad indicada.

R1: abierto y refrigerado en el analizador, 28 días.

R2: abierto y refrigerado en el analizador, 28 días.

Obtención y preparación de las muestras

Emplear únicamente tubos o recipientes adecuados para recoger y preparar las muestras.

Sólo se han analizado y encontrado aptas las muestras aquí mencionadas.

Suero

Plasma: Tratado con heparina (Li, Na o EDTA potásico). No utilice heparina de amonio.

Estabilidad:¹⁰ 7 días a 15-25 °C
7 días a 2-8 °C
1 año a (-15)-(-25) °C

Orina: Recoger la orina sin añadir conservantes.

Estabilidad:¹⁰ 2 días a 15-25 °C
7 días a 2-8 °C
4 semanas a (-15)-(-25) °C

UREA/BUN

Test cinético UV para urea o nitrógeno ureico

cobas®

Usuarios de los analizadores Roche/Hitachi 912, 917 y MODULAR:
Las muestras de orina se diluyen automáticamente 1 + 19 con solución NaCl al 0,9 % o con agua destilada o desionizada en los analizadores. Estas prediluciones se consideran al calcular los resultados.

Analizadores Roche/Hitachi sin dilución automática de la muestra:
Las muestras de orina se diluyen manualmente (p. ej. 1 + 10) con solución de cloruro sódico al 0,9 % o con agua dest. o resp. agua desionizada. El resultado se multiplica por el factor de dilución correspondiente (p.ej. 11).
Los diferentes tipos de muestra fueron analizados en tubos de recogida de muestras seleccionados, comercialmente disponibles en aquel momento, lo cual significa que no fueron analizados todos los tubos de todos los fabricantes. Los sistemas de recogida de muestras de diversos fabricantes pueden contener diferentes materiales que en ciertos casos pueden llegar a afectar los resultados de los análisis. Si las muestras se procesan en tubos primarios (sistemas de recogida de muestras), seguir las instrucciones del fabricante de los tubos.
Centrifugar las muestras que contienen precipitado antes de efectuar el test.

Material suministrado

- Consultar la sección "Reactivos – Soluciones de trabajo" en cuanto a los reactivos suministrados.

Material requerido (no suministrado)

- Calibrador: C.f.a.s. (Calibrator for automated systems), Ref. 10759350 190, 10759350 360 (para los EE.UU.)
- Controles: Precinorm U, p.ej. Ref. 10171743 122, o bien Precinorm U plus, Ref. 12149435 122, 12149435 160 (para los EE.UU.); Precipath U, p. ej. Ref. 10171778 122, o bien Precipath U plus, Ref. 12149443 122, 12149443 160 (para los EE.UU.)
- Chimeneas. Ref. 11930630 001
- NaCl al 0,9 %
- Equipo usual de laboratorio

Ejecución del test

Para un funcionamiento óptimo del test, observar las instrucciones de la presente metódica referentes al analizador empleado. Consultar el manual del operador del analizador en cuanto a las instrucciones específicas de ensayo. Roche no se responsabiliza del funcionamiento de las aplicaciones no validadas por la empresa. En su caso, el usuario se hace cargo de su definición.

Calibración

Trazabilidad: El presente método ha sido estandarizado frente al estándar SRM® 909b.

Suero/orina

Este estuche de reactivos requiere chimeneas codificadas por colores destinadas a reducir la absorción del NH₃ atmosférico. Las chimeneas se colocan directamente en el frasco del reactivo respectivo: R1 requiere chimeneas blancas. Las chimeneas pueden usarse varias veces con los frascos de reactivo del mismo estuche. Las chimeneas se requieren en todos los analizadores.

S1: NaCl al 0,9 %

S2: C.f.a.s. (Calibrator for automated systems)

Frecuencia de calibraciones

Se recomienda una calibración a 2 puntos:

- cada 42 días
- tras cambiar de lote de reactivos
- según lo requiera el control de calidad

c) SRM = Material de referencia estándar

Control de calidad

Suero/orina

Para el control de calidad, emplear el material de control sin diluir indicado en la sección "Material requerido". Puede emplearse también otro material de control apropiado. Los intervalos y límites de control deben adaptarse a los requerimientos de cada laboratorio en particular. Los valores deben situarse dentro de los límites establecidos. Cada laboratorio debería establecer mediciones correctivas en caso de obtener valores fuera del intervalo preestablecido. Sirvase cumplir con las regulaciones gubernamentales y las normas locales de control de calidad pertinentes.

Cálculo

El analizador calcula automáticamente la concentración del analito en cada muestra.

Factores de conversión: mg/dL de urea x 0,167 = mmol/L de urea
mmol/L de urea x 6,006 = mg/dL de urea
mg/dL de nitrógeno ureico x 0,357 = mmol/L de urea
mg/dL de urea x 0,467 = mg/dL de nitrógeno ureico

Si se emplea una muestra de orina de 24 horas, multiplicar el resultado por el volumen de 24 horas para obtener valores en g o mmol/24 horas.

Limitaciones – Interferencias¹⁾

Criterio: Recuperación dentro de ± 10 % del valor inicial.
Ictericia: Sin interferencias significativas hasta un índice I de 60 (concentración aproximada de bilirrubina conjugada y no conjugada: 60 mg/dL ó 1.026 µmol/L).
Hemólisis: Sin interferencias significativas hasta un índice H de 1.000 (concentración aproximada de hemoglobina: 1.000 mg/dL ó 621 µmol/L).
Lipemia (Intralipid): Sin interferencia significativa hasta un índice L de 1.000. No existe una concordancia satisfactoria entre el índice L (correspondiente a la turbidez) y la concentración de triglicéridos.

El amoníaco que se forma en la cubeta durante la determinación de GLDH interfiere con el test de urea/nitrógeno ureico. No colocar el reactivo de urea/nitrógeno ureico junto a los reactivos del test GLDH. En orina, los iones endógenos de amoníaco interfieren en el test de urea/nitrógeno ureico. En condiciones de análisis ácidas (como por ejemplo en la acidosis) pueden medirse concentraciones elevadas.

Sírvase trabajar con gran cuidado para evitar la contaminación con amoníaco de las muestras y calibradores empleados en el test de urea/nitrógeno ureico. En casos muy raros pueden obtenerse resultados falsos debidos a la gammapatía, particularmente del tipo IgM (macroglobulinemia de Waldenstrom).

Con fines diagnósticos, los resultados obtenidos con el test siempre deben evaluarse junto al historial del paciente, los exámenes clínicos y los resultados de otros análisis.

ACCIÓN REQUERIDA

Programa especial de lavado: Los pasos de lavado especial se aplican cuando ciertos tests se utilizan conjuntamente de forma combinada en los analizadores Roche/Hitachi. Las combinaciones de tests que requieren pasos de lavado adicional pueden consultarse en la versión más actual de las listas de "Lavados Adicionales" destinadas a evitar la contaminación por arrastre y en el manual del operador. En los EE.UU., sírvase consultar el documento de programación de lavado especial (en la página web MyLabOnline) y el manual del operador para obtener las instrucciones pertinentes.

En caso de que sea necesario, implemente el lavado especial para evitar la contaminación por arrastre antes de comunicar los resultados del test.

Límites e intervalos

Intervalo de medición

Suero/plasma

0,83-66,8 mmol/L (5-400 mg/dL de urea o bien 2-186 mg/dL de nitrógeno ureico)

Analizador Roche/Hitachi 912:

Determinar las muestras con concentraciones superiores por la función de repetición del ciclo. La dilución automática de las muestras por la función de repetición del ciclo es de 1:2. Los resultados de las muestras diluidas por la función de repetición del ciclo se multiplican automáticamente por el factor 2.

Analizadores Roche/Hitachi 917, MODULAR P/MODULAR D:

Determinar las muestras con concentraciones superiores por la función de repetición del ciclo. La dilución automática de las muestras por la función de repetición del ciclo es de 1:1,5. Los resultados de las muestras diluidas por la función de repetición del ciclo se multiplican automáticamente por el factor 1,5. En analizadores sin función de repetición, las muestras con una actividad superior se diluyen manualmente con una solución de cloruro sódico al 0,9 % o con agua destilada o desionizada (p.ej. 1 + 1). El resultado se multiplica por el factor de dilución correspondiente (p.ej. 2).

CHOL

Colesterol CHOD-PAP

● Estuche adecuado para el analizador Roche/Hitachi respectivo

Ref.	Frasco	Contenido	902	912	917	MODULAR	
						P	D
11491458 216	1	REAGENT 12 x 65 mL			●	●	
11875540 216	1	REAGENT 6 x 258 mL				●	●
11875523 216	1	REAGENT 4 x 641 mL					●
12016630 122	1	REAGENT 8 x 20 mL	●				
11489232 216	1	REAGENT 18 x 50 mL	●	●			
11489437 216	1	REAGENT 10 x 100 mL		●			

Algunos estuches y analizadores no están disponibles en todos los países. Sírvase consultar al representante local de Roche Diagnostics en cuanto a aplicaciones adicionales.

Español

Información del sistema

Analizadores Roche/Hitachi 912/917: ACN 433 (código EE.UU. 722).
Analizadores Roche/Hitachi MODULAR P/ D: ACN 433.

Aplicaciones adicionales disponibles a pedido:

Analizador Roche/Hitachi 912: ACN 432 (R2).

Analizador Roche/Hitachi 917: ACN 039 (código EE.UU. 590) (R2).

Uso previsto

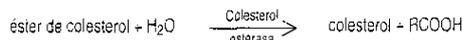
Test enzimático in vitro para la determinación cuantitativa directa del colesterol en suero y plasma humanos con analizadores automáticos Roche de química clínica.

Características

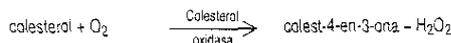
El colesterol es un esteroide con un grupo hidroxilo secundario en la posición C₃. Se sintetiza en tejidos de varios tipos, pero especialmente en el hígado y en la pared intestinal. Aprox. tres cuartos del colesterol se forman por síntesis, mientras que el cuarto restante proviene de la alimentación. La determinación del colesterol se emplea para cribar el riesgo aterógeno, así como para diagnosticar y tratar enfermedades con niveles elevados de colesterol o trastornos de los metabolismos lipídico y lipoproteico. La determinación del colesterol fue descrita por vez primera por Liebermann en 1885 y luego por Burchard en 1889. Según el principio de Liebermann-Burchard, el colesterol forma un compuesto verde azulado a partir de carbohidratos polímeros insaturados en un medio en el que están presentes el ácido acético, el anhídrido acético y el ácido sulfúrico concentrado. En el método de Abell y Kendall, que es más específico pero más complejo desde un punto de vista técnico, se emplean también reactivos cáusticos. En 1974, Roeschlaue y Allain describieron el primer método completamente enzimático. Este método se basa en la determinación de la Δ⁵-colestenona tras el desdoblamiento enzimático de los ésteres de colesterol por la colesterol-esterasa, después de la transformación del colesterol por la colesteroloxidasa, así como la medición subsiguiente del peróxido de hidrógeno formado a través de una reacción de Tander. La optimización del desdoblamiento de los ésteres (> 99,5 %) permite la estandarización por estándares primarios y secundarios y una comparación directa con los métodos de referencia de CDC y NIST.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9}

Las muestras recogidas en ayunas proporcionan resultados ligeramente superiores a las recogidas tras la ingestión de alimentos.^{10,11}

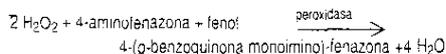
El test de colesterol de Roche cumple con los objetivos sentados en 1992 por los Institutos Nacionales de la Salud de los EE.UU. (NIH) equivalentes al 3 % o aún inferiores para la precisión y la desviación.¹²



Los ésteres de colesterol se desdoblan por la acción de la colesterol esterasa a colesterol libre y ácidos grasos.



La colesteroloxidasa cataliza entonces la oxidación del colesterol a colest-4-en-3-ona y peróxido de hidrógeno.



Bajo la acción catalítica de la peroxidasa, el peróxido de hidrógeno formado reacciona con 4-aminofenazona y fenol para formar un colorante rojo. La intensidad cromática es directamente proporcional a la concentración de colesterol y puede medirse fotométricamente.

Reactivos – Soluciones de trabajo

R1 Tampón PIPES^a: 75 mmol/L, pH 6,8; Mg²⁺: 10 mmol/L; colato sódico: 0,2 mmol/L; 4-aminofenazona ≥ 0,15 mmol/L; fenol ≥ 4,2 mmol/L; éter poliglicólico de alcohol graso: 1 %; colesterol-esterasa (Pseudomonas spec.) ≥ 0,5 U/ml (8,33 µkat/L); colesteroloxidasa (E. coli) ≥ 0,15 U/ml (2,5 µkat/L); peroxidasa (rábano) ≥ 0,25 U/ml (4,17 µkat/L); estabilizadores; conservar. e.

a) PIPES = ácido piperacín 1,4-bis (2-etanosulfónico)

Medidas de precaución y advertencias

Para el uso diagnóstico in vitro

Observar las medidas de precaución usuales para la manipulación de reactivos.

Ficha de datos de seguridad a la disposición del usuario profesional que la solicite.

Eliminar los residuos según las normas locales vigentes.

Preparación de los reactivos

R1: El contenido está listo para el uso. El color rosa fuerte propio del reactivo de colesterol no interfiere con el test.

Si se forma demasiada espuma en el frasco, el reactivo no puede pipetarse correctamente, provocando eventualmente la obtención de resultados erróneos. Asegúrese de que no haya espuma en la superficie del reactivo antes de colocarlo en el analizador.

Principio de test

Test enzimático colorimétrico

Muestra, adición de R1 e inicio de la reacción: El colesterol se determina enzimáticamente mediante la colesterol-esterasa y la colesteroloxidasa.

Conservación y estabilidad

Sin abrir, a 2-8 °C; hasta la fecha de caducidad indicada.

R1: 28 días, abierto y refrigerado en el analizador, si se lo protege de la luz y de la contaminación por microorganismos.

CHOL

Colesterol CHOD-PAP

cobas®

Obtención y preparación de las muestras

Emplear únicamente tubos o recipientes adecuados para recoger y preparar las muestras.

Solo se han analizado y encontrado aptas las muestras aquí mencionadas.

Suero

Plasma: Tratado con heparina o EDTA. No emplear citrato, oxalato ni fluoruro.¹³

Los diferentes tipos de muestra fueron analizados en tubos de recogida de muestras seleccionados, comercialmente disponibles en aquel momento, lo cual significa que no fueron analizados todos los tubos de todos los fabricantes. Los sistemas de recogida de muestras de diversos fabricantes pueden contener diferentes materiales que en ciertos casos pueden llegar a afectar los resultados de los análisis. Si las muestras se procesan en tubos primarios (sistemas de recogida de muestras), seguir las instrucciones del fabricante de los tubos.

Se puede emplear muestras recogidas en ayunas o después de comer.¹⁷
Centrifugar las muestras que contienen precipitado antes de efectuar el test.

Estabilidad: ¹⁴	7 días a 15-25 °C
	7 días a 2-8 °C
	3 meses a (-15)-(-25) °C

Material suministrado

Consultar la sección "Reactivos - Contenido y concentraciones" en cuanto a los reactivos suministrados.

Material requerido (no suministrado)

- Calibrador: C.f.a.s. (Calibrator for automated systems), Ref. 10759350 190, 10759350 360 (para los EE.UU.)
- Controles: Precinorm L, p.ej. Ref. 10781827 122, Precinorm U, p.ej. Ref. 10171743 122, o bien Precinorm U plus, Ref. 12149435 122, 12149435 160 (para los EE.UU.); Precipath L, p.ej. Ref. 11285874 122, Precipath U, p.ej. Ref. 10171778 122 o bien Precipath U plus, Ref. 12149443 122, 12149443 160 (para los EE.UU.)
- NaCl al 0,9%
- Cell Wash Solution/Acid Wash, Ref. 12131625 216
- Equipo usual de laboratorio

Ejecución del test

Para un funcionamiento óptimo del test, observar las instrucciones de la presente metódica referentes al analizador empleado. Consultar el manual del operador del analizador en cuanto a las instrucciones específicas de ensayo. Roche no se responsabiliza del desempeño de las aplicaciones no validadas por la empresa. En su caso, el usuario se hace cargo de su definición.

Calibración

Trazabilidad: El presente método ha sido estandarizado tanto por dilución de isótopos/espectrometría de masa como frente al método Abell-Kandall. Así se cumple con los requerimientos del National Institute of Standards and Technology (NIST).

S1: NaCl al 0,9%

S2: C.f.a.s. (Calibrator for automated systems)

Frecuencia de calibraciones

Se recomienda recalibrar:

- efectuar una calibración del blanco tras cambiar de frascos de reactivo
- efectuar una calibración a 2 puntos tras cambiar de lote de reactivo
- efectuar una calibración a 2 puntos, según lo especificado por los procedimientos de control de calidad

Control de calidad

Para el control de calidad, emplear el material de control indicado en la sección "Material requerido". Puede emplearse también otro material de control apropiado.

Los intervalos y límites del control han de adaptarse a los requisitos individuales del laboratorio. Los valores deben situarse dentro de los límites establecidos. Cada laboratorio debería establecer mediciones correctivas en caso de obtener valores fuera del intervalo preestablecido.

Sirvase cumplir con las regulaciones gubernamentales y las normas

Cálculo

El analizador calcula automáticamente la concentración del analito en cada muestra.

Factores de conversión: mg/dL x 0,0259 = mmol/L

mmol/L x 38,66 = mg/dL

Limitaciones - Interferencias¹⁵

Criterio: Recuperación dentro de $\pm 10\%$ del valor inicial.

Ictericia: Sin interferencias significativas hasta un índice I de 25 (concentración aproximada de bilirrubina conjugada: 428 $\mu\text{mol/L}$ ó 25 mg/dL) y el índice I de 10 (concentración aproximada de bilirrubina sin conjugar: 171 $\mu\text{mol/L}$ ó 10 mg/dL).

Hemólisis: Sin interferencias significativas hasta un índice H de 700 (concentración aproximada de hemoglobina: 435 $\mu\text{mol/L}$ ó 700 mg/dL).

Lipemia (Intralipid): Sin interferencia significativa hasta un índice L de 1.250.

No existe una concordancia satisfactoria entre el índice L (correspondiente a la turbidez) y la concentración de triglicéridos.

En casos muy raros pueden obtenerse resultados falsos debidos a la gammapatía, particularmente del tipo IgM (macroglobulinemia de Waldenstroem).

Con fines diagnósticos, los resultados obtenidos con el test siempre deben evaluarse junto al historial del paciente, los exámenes clínicos y los resultados de otros análisis.

ACCIÓN REQUERIDA

Programa especial de lavado: Los pasos de lavado especial se aplican cuando ciertos tests se utilizan conjuntamente de forma combinada en los analizadores Roche/Hitachi. Las combinaciones de tests que requieren pasos de lavado adicional pueden consultarse en la versión más actual de las listas de "Lavados Adicionales" destinadas a evitar la contaminación por arrastre y en el manual del operador. En los EE.UU., sírvase consultar el documento de programación de lavado especial (en la página web MyLabOnline) y el manual del operador para obtener las instrucciones pertinentes.

En caso de que sea necesario, implemente el lavado especial para evitar la contaminación por arrastre antes de comunicar los resultados del test.

Límites e intervalos

Intervalo de medición

0,08-20,7 mmol/L (3-800 mg/dL)

Determinar las muestras con concentraciones superiores por la función de repetición del ciclo. En analizadores sin función de repetición, las muestras con una concentración superior se diluyen manualmente con una solución de cloruro sódico al 0,9% o con agua destilada o desionizada (p.ej. 1 + 2). El resultado se multiplica por el factor de dilución correspondiente (p.ej. 3).

Analizador Roche/Hitachi 912:

Determinar las muestras con concentraciones superiores por la función de repetición del ciclo. La dilución automática de las muestras por la función de repetición del ciclo es de 1:1,5. Los resultados de las muestras diluidas por la función de repetición del ciclo se multiplican automáticamente por el factor 1,5. Analizadores Roche/Hitachi 917/MODULAR P:

Determinar las muestras con concentraciones superiores por la función de repetición del ciclo. La dilución automática de las muestras por la función de repetición del ciclo es de 1:5,5. Los resultados de las muestras diluidas por la función de repetición del ciclo se multiplican automáticamente por el factor 5,5.

Límites inferiores de medición

Límite inferior de detección del test

3 mg/dL (0,08 mmol/L)

El límite inferior de detección equivale a la menor concentración medible de analito que puede distinguirse de cero. Se calcula como el valor situado a tres desviaciones estándar por encima del estándar más bajo (estándar 1 + 3 DE, repetibilidad, n = 21).

CHOL

Colesterol CHOD-PAP



Valores teóricos

Interpretación clínica según las recomendaciones de la Sociedad Europea de Aterosclerosis:¹⁶

	mmol/L	mg/dL	Trastorno del metabolismo de lípidos
Colesterol Triglicéridos	< 5,18 < 2,26	< 200 < 200	No
Colesterol	5,18–7,77	200–300	Si si colesterol HDL < 0,9 mmol/L (< 35 mg/dL)
Colesterol Triglicéridos	> 7,77 > 2,26	> 300 > 200	Si

Intervalos discriminatorios de riesgo para la población de los EE.UU. recomendados según el equipo de tratamiento de adultos del Programa Nacional de Educación para el colesterol de los EE.UU.¹⁷

Intervalo ideal para el colesterol: < 5,2 mmol/L (< 200 mg/dL)
Intervalo límite para el colesterol elevado: 5,2-6,2 mmol/L (200-239 mg/dL)
Colesterol alto: ≥ 6,2 mmol/L (≥ 240 mg/dL)

Cada laboratorio debería comprobar si los intervalos de referencia pueden aplicarse a su grupo de pacientes y en caso necesario establecer sus propios valores.

Efectuar como mínimo 2 determinaciones de colesterol en diferentes momentos antes de proceder a la evaluación médica, ya que una determinación aislada puede no ser representativa para el valor normal de colesterol del paciente.

Datos específicos de funcionamiento del test

A continuación, se indican los datos representativos de funcionamiento obtenidos en los analizadores. Los resultados de cada laboratorio en particular pueden diferir de estos valores.

Precisión

La precisión ha sido determinada mediante muestras humanas y controles según un protocolo interno. Repetibilidad* (n = 21), precisión intermedia** (3 alícuotas por serie, 1 serie por día, 21 días). Se han obtenido los siguientes resultados:

Muestra	Repetibilidad*			Precisión intermedia**		
	VM mmol/L	CV mg/dL	CV %	VM mmol/L	CV mg/dL	CV %
Suero humano	5,98	231	0,8	5,44	210	1,7
Precinorm U	3,04	118	1,0	2,97	115	2,1
Precipath U	3,35	129	0,7	3,28	127	2,7

* repetibilidad = precisión intraserial

** precisión intermedia = precisión total/precisión interensayo/precisión día a día

Comparación de métodos

- A. Una comparación del colesterol emoleando el reactivo Roche Colesterol liquid en los analizadores Roche/Hitachi 917 (y) y Roche/Hitachi 717 (x) ha dado la siguiente correlación (mg/dL):
- Passing/Bablok¹⁸ Regresión lineal
 $y = 0,992x + 0,618$ $y = 0,977x + 3,58$
 $r = 0,96$ $r = 0,997$
- Cantidad de muestras medidas: 154
 La concentración de las muestras se situó entre 1,27 y 13,6 mmol/L (49-525 mg/dL).
- B. Una comparación efectuada entre la determinación de colesterol con el reactivo para el colesterol de Roche y el método de referencia de Abell-Kendall en el analizador Roche/Hitachi 747 (x) ha dado las correlaciones siguientes (mg/dL):
- Passing/Bablok¹⁸ Regresión lineal
 $y = 1,03x - 1,49$ $y = 1,02x - 0,196$
 $r = 0,999$
- Cantidad de muestras medidas: 72
 La concentración de las muestras se situó entre 1,11 y 18,2 mmol/L (43-704 mg/dL).

Referencias bibliográficas

- Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3^{er} ed. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995.
- Liebermann C. Ber Dtsch chem Ges 1885;18:1803.
- Burchard H. Beiträge zur Kenntnis der Cholesterine. Dissertation, Rostock 1889.
- Abell L et al. Standard Methods in Clinical Chemistry 1958;26:2.
- Allain CC et al. Enzymatic determination of total serum cholesterol. Clin Chem 1974;20:470-475.
- Roeschlau P et al. Enzymatic determination of total cholesterol in serum. Z Klin Chem Klin Biochem 1974;12:226.
- Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. Ann Clin Biochem 1969;6:24-27.
- Siedel J, Hägele EO, Ziegenhorn J et al. Reagent for the enzymatic determination of serum total cholesterol with improved lipolytic efficiency. Clin Chem 1983;29:1075-1080.
- Wiebe DA, Bernert JT. Influence of incomplete cholesteryl ester hydrolysis on enzymatic measurements of cholesterol. Clin Chem 1984;30:352-356.
- Cohn JS, McNamara JR, Schaefer EJ. Lipoprotein Cholesterol Concentrations in the Plasma of Human Subjects as Measured in the Fed and Fasted States. Clin Chem 1988;34:2456-2459.
- Pisani T, GebSKI CP, Leary ET et al. Accurate Direct Determination of Low-density Lipoprotein Cholesterol Using an Immunoseparation Reagent and Enzymatic Cholesterol Assay. Arch Pathol Lab Med 1995;119:1127.
- Recommendations for Improving Cholesterol Measurement: A Report from the Laboratory Standardization Panel of the National Cholesterol Education Program. NIH Publication No. 90-2964, February 1990.
- Nader R, Dufour DR, Cooper GR. Preanalytical Variation in Lipid, Lipoprotein, and Apolipoprotein Testing. In: Rifai N, Warnick GR and Dominiczak MH, editors. Handbook of Lipoprotein Testing. 2nd ed. Washington: AACC press; p.176.
- Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2. Jan. 2002.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
- Study Group. European Atherosclerosis Society. Strategies for the prevention of coronary heart disease: A policy statement of the European Atherosclerosis Society. European Heart Journal 1987;8:77.
- Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). NIH Publication No. 01-3670. May 2001.
- Passing H, Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

Programación del analizador

Usuarios estadounidenses:

Sírvase consultar la ficha de aplicación y el documento de programación de lavado especial (localizado en la página web MyLabOnline) para obtener información adicional.

Usuarios de los analizadores Roche/Hitachi 912, 917 y MODULAR: Introducir los parámetros de aplicación del disquete de aplicación, de la ficha de código de barras o de programación, según corresponda.

● Estuche adecuado para el analizador Roche/Hitachi respectivo

Ref.	Frasco	Contenido	902	912	917	MODULAR	
						P	D
11730711 216	1	REAGENT 12 x 65 mL			●	●	
11876023 216	1	REAGENT 6 x 258 mL				●	●
11876040 216	1	REAGENT 4 x 641 mL					●
12016648 122	1	REAGENT 8 x 20 mL	●				
11488872 216	1	REAGENT 18 x 50 mL	●	●			

Algunos estuches y analizadores no están disponibles en todos los países. Para otras metodicas específicas, dirijase al representante de Roche Diagnostics en su país.

Español

Información del sistema

Analizadores Roche/Hitachi 912/917*/MODULAR*: ACN 781.

a) Aplicación destinada a evitar la depleción de oxígeno.

Las siguientes aplicaciones de R2 se encuentran disponibles a pedido:

Analizador Roche/Hitachi 912: ACN 782 (excepto en los EE.UU.)

Analizador Roche/Hitachi 917: ACN 779 (excepto en los EE.UU.); ACN 165 (de uso exclusivo en los EE.UU.).

Uso previsto

Test enzimático in vitro para la determinación cuantitativa directa de triglicéridos en suero y plasma humanos con analizadores Roche de química clínica.

Generalidades^{1,2,3,4,5,6}

Los triglicéridos son ésteres del glicerol, un alcohol trivalente con 3 ácidos grasos de cadenas largas. En parte son sintetizados en el hígado, en parte se ingieren con la alimentación.

La determinación de los triglicéridos se emplea para diagnosticar y tratar pacientes con diabetes mellitus, nefrosis, obstrucción hepática, trastornos del metabolismo lipídico y otras numerosas enfermedades endocrinas.

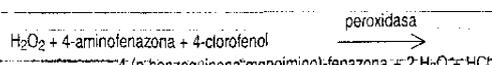
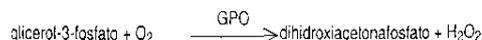
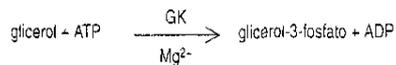
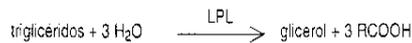
La determinación enzimática de triglicéridos descrita por Eggstein y Kreutz aún requería la saponificación con hidróxido de potasio. Posteriormente se realizaron varios experimentos para sustituir la saponificación alcalina por una hidrólisis enzimática con lipasa. Así, Bucolo y David experimentaron con una mezcla de lipasa y una proteasa, mientras Wahlefeld empleaba para la hidrólisis una esterasa hepática combinada con una lipasa particularmente efectiva obtenida de *Rhizopus arrhizus*.

El presente método se basa en el trabajo de Wahlefeld y utiliza una lipasa lipoproteica obtenida de microorganismos para hidrolizar completa y rápidamente triglicéridos a glicerol, con la oxidación posterior a dihidroxiacetona-fosfato y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno formado reacciona bajo la acción catalítica de la peroxidasa con la 4-aminofenazona y 4-clorofenol para formar un colorante rojo en una reacción de punto final según Trinder. La intensidad cromática del colorante rojo es directamente proporcional a la concentración de triglicéridos y puede medirse fotométricamente.

Principio del test⁶

Test enzimático colorimétrico.

- Muestra y adición de R1 (tampón) e inicio de la reacción:



Reactivos – Soluciones de trabajo

R1 Tampón PIPES^a: 50 mmol/L, pH 6.8; Mg²⁺: 40 mmol/L; cotato sódico: 0,20 mmol/L; ATP ≥ 1,4 mmol/L; 4-aminofenazona ≥ 0,13 mmol/L; 4-clorofenol: 4,7 mmol/L; hexacianoferrato de potasio (II): 1 μmol/L; éter poliglicólico de alcohol graso: 0,65 %; lipasa lipoproteica (*Pseudomonas species*): ≥ 5,0 U/mL; gliceroquinasa (*Bacillus stearothermophilus*) ≥ 0,19 U/mL; glicerol fosfato oxidasa (*E. coli*) ≥ 2,5 U/mL; peroxidasa (rábano picante) ≥ 0,10 U/mL; conservante

a) PIPES = ácido piperacín 1,4-bis (2-etanosulfónico).

Medidas de precaución y advertencias

Para el uso diagnóstico in vitro

Observar las medidas de precaución usuales para la manipulación de reactivos.

Ficha de datos de seguridad a la disposición del usuario profesional que la solicite.

Eliminar los residuos según las normas locales vigentes.

Preparación de los reactivos

R1: El contenido está listo para el uso.

Si se forma demasiada espuma en el frasco, el reactivo no puede pipetarse correctamente, provocando eventualmente la obtención de resultados erróneos. Asegúrese de que no haya espuma en la superficie del reactivo antes de colocarlo en el analizador.

Conservación y estabilidad

Sin abrir, a 2-8 °C, hasta la fecha de caducidad indicada.

R1: abierto y refrigerado en el analizador, 14 días.

Obtención y preparación de las muestras

Emplear únicamente tubos o recipientes adecuados para recoger y preparar las muestras.

Solo se han analizado y encontrado aptas las muestras aquí mencionadas.

Suero

Plasma: Tratado con heparina o con EDTA

Los diferentes tipos de muestra fueron analizados en tubos de recogida de muestras seleccionados, comercialmente disponibles en aquel momento, lo cual significa que no fueron analizados todos los tubos de todos los fabricantes. Los sistemas de recogida de muestras de diversos fabricantes pueden contener diferentes materiales que en ciertos casos pueden llegar a afectar los resultados de los análisis. Si las muestras se procesan en tubos primarios (sistemas de recogida de muestras), seguir las instrucciones del fabricante de los tubos.

Centrifugar las muestras que contienen precipitado antes de efectuar el test.

Estabilidad:⁷

- 5-7 días a 2-8 °C
- 3 meses a (-15)-(-25) °C
- varios años a (-60)-(-80) °C

Material suministrado

Consultar la sección "Reactivos – Soluciones de trabajo".

Material requerido (no suministrado)

Calibrador: C.f.a.s. (Calibrator for automated systems),

Ref. 10759350 190, 10759350 360 (para los EE.UU.)

Controles: Precinorm U, p.ej. Ref. 10171743 122;

Precinorm U plus, Ref. 12149435 122, 12149435 160 (para los EE.UU.);

Precinorm L, Ref. 10781827 122;

TG

Triglicéridos GPO-PAP

Precipath U, p.ej. Ref. 10171778 122.
Precipath U plus, Ref. 12149443 122, 12149443 160 (para los EE.UU.),
Precipath L, Ref. 11285874 122

- NaCl al 0,9 %
- Equipo usual de laboratorio

Ejecución del test

Para un funcionamiento óptimo del test, observar las instrucciones de la presente metodología referentes al analizador empleado. Consultar el manual del operador del analizador en cuanto a las instrucciones específicas de ensayo. Roche no se responsabiliza del funcionamiento de las aplicaciones no validadas por la empresa. En su caso, el usuario se hace cargo de su definición.

Calibración

Trazabilidad: El presente método ha sido estandarizado frente a espectrometría de masa por dilución de isótopo.

S1: NaCl al 0,9 %

S2: C.I.a.s. (Calibrator for automated systems)

Frecuencia de calibraciones

Se recomienda efectuar la recalibración en los siguientes casos:

- calibración en blanco, tras cambiar el frasco de reactivos
- calibración a 2 puntos, tras cambiar de lote de reactivo
- calibración a 2 puntos, siempre que así lo requieran los procedimientos de control de calidad

Control de calidad

Para el control de calidad, emplear el material de control indicado en la sección "Material requerido". Puede emplearse también otro material de control apropiado.

Los intervalos y límites del control han de adaptarse a los requisitos individuales del laboratorio. Los valores deben situarse dentro de los límites establecidos. Cada laboratorio debería establecer mediciones correctivas en caso de obtener valores fuera del intervalo preestablecido.

Sírvase cumplir con las regulaciones gubernamentales y las normas locales de control de calidad pertinentes.

Cálculo

El analizador calcula automáticamente la concentración del analito en cada muestra.

Factores de conversión: $\text{mg/dL} \times 0,0113 = \text{mmol/L}$
 $\text{mmol/L} \times 88,5 = \text{mg/dL}$

Nota

Si se desea tomar en cuenta el glicerol libre, sustraer 0,11 mmol/L (10 mg/dL) del valor de triglicéridos obtenido del paciente.⁷ Para sueros de control, observe el valor diana indicado por el fabricante.

Limitaciones - Interferencias

Criterio: Recuperación dentro de $\pm 10\%$ del valor inicial.

Ictericia: Sin interferencias significativas hasta un índice I de 10 para bilirrubina conjugada y de 27 para la bilirrubina sin conjugar (concentración aproximada de bilirrubina conjugada: 10 mg/dL ó 171 $\mu\text{mol/L}$; concentración aproximada de bilirrubina sin conjugar: 27 mg/dL ó 462 $\mu\text{mol/L}$).^{8,9}

Hemólisis: Sin interferencias significativas hasta un índice H de 500 (concentración aproximada de hemoglobina: 500 mg/dL ó 310 $\mu\text{mol/L}$).^{8,9}

Lipemia: El índice L está correlacionado con la turbidez de la muestra pero no con el nivel de triglicéridos. Las muestras extremadamente lipémicas (triglicéridos superiores a 33,9 mmol/L ó 3.000 mg/dL) pueden producir resultados normales.^{8,9} En los analizadores Roche/Hitachi 912, 917 y MODULAR, diluir estas muestras de 1 + 4 con NaCl al 0,9 % y multiplicar el resultado por 5 o efectuar el test con un volumen de muestra reducido.

3) medido con concentraciones de TG de hasta aprox. 170 mg/dL.

4) medido con concentraciones de TG de hasta aprox. 165 mg/dL.

Fármacos: No se han registrado interferencias con paneles de fármacos de uso extendido. Excepción: El ácido ascórbico y el dobesilato de calcio causan resultados artificialmente reducidos de triglicéridos en los niveles analizados del fármaco, mientras que Intralipid causa resultados artificialmente elevados de triglicéridos con un nivel elevado de fármaco.

El glicerol endógeno sin esterificar en la muestra puede producir valores séricos de triglicéridos falsamente elevados.

cobas®

En casos muy raros pueden obtenerse resultados falsos debidos a la gammapatía, particularmente de tipo IgM (macroglobulinemia de Waldenstroem).

Con fines diagnósticos, los resultados obtenidos con el test siempre deben evaluarse junto al historial del paciente, los exámenes clínicos y los resultados de otros análisis.

ACCIÓN REQUERIDA

Programa especial de lavado: Los pasos de lavado especial se aplican cuando ciertos tests se utilizan conjuntamente de forma combinada en los analizadores Roche/Hitachi. Las combinaciones de tests que requieren pasos de lavado adicional pueden consultarse en la versión más actual de las listas de "Lavados Adicionales" destinadas a evitar la contaminación por arrastre y en el manual del operador. En los EE.UU., sírvase consultar el documento de programación de lavado especial (en la página web MyLabOnline) y el manual del operador para obtener las instrucciones pertinentes.

En caso de que sea necesario, implemente el lavado especial para evitar la contaminación por arrastre antes de comunicar los resultados del test.

Límites e intervalos

Intervalo de medición

Intervalo de medición: 0,05-11,3 mmol/L (4-1.000 mg/dL)

Suero/plasma

Analizadores Roche/Hitachi 912:

Determinar las muestras con concentraciones superiores por la función de repetición del ciclo. La dilución automática de las muestras por la función de repetición del ciclo es de 1:3. Los resultados de las muestras diluidas por la función de repetición del ciclo se multiplican automáticamente por el factor 3. Analizador Roche/Hitachi 917

Determinar las muestras con concentraciones superiores por la función de repetición del ciclo. La dilución automática de las muestras por la función de repetición del ciclo es de 1:3,14. Los resultados de las muestras diluidas por la función de repetición del ciclo se multiplican automáticamente por el factor 3,14. Analizador Roche/Hitachi MODULAR P

Determinar las muestras con concentraciones superiores por la función de repetición del ciclo. La dilución automática de las muestras por la función de repetición del ciclo es de 1:5,5. Los resultados de las muestras diluidas por la función de repetición del ciclo se multiplican automáticamente por el factor 5,5. En analizadores sin función de repetición, las muestras con una concentración superior se diluyen manualmente con una solución de cloruro sódico al 0,9 % o con agua destilada o desionizada (p.ej. 1 + 4). El resultado se multiplica por el factor de dilución correspondiente (p.ej. 5).

Límites inferiores de medición

Límite inferior de detección del test

Límite de detección: 0,05 mmol/L (4 mg/dL)

El límite inferior de detección equivale a la menor concentración medible de analito que puede distinguirse de cero. Se calcula como el valor situado a tres desviaciones estándar por encima del estándar más bajo (estándar 1 + 3 DE, repetibilidad, n = 21).

Interpretación clínica según las recomendaciones de la Sociedad Europea de Aterosclerosis:¹⁰

	mmol/L	mg/dL	Trastorno del metabolismo de lípidos
Colesterol	< 5,18	< 200	No
Triglicéridos	< 2,26	< 200	
Colesterol	5,18-7,77	200-300	Si si colesterol HDL <0,9 mmol/L (<35 mg/dL)
Colesterol	> 7,77	> 300	Sí
Triglicéridos	> 2,26	> 200	

Valores teóricos según NCEP¹¹

Intervalo normal: < 2,26 mmol/L (< 200 mg/dL).

Cada laboratorio debería comprobar si los intervalos de referencia pueden aplicarse a su grupo de pacientes y, en caso necesario, establecer sus propios valores.

1150-CO0914-3
TG

Triglicéridos GPO-PAP

cobas®

Datos específicos de funcionamiento del test

A continuación, se indican los datos representativos de funcionamiento obtenidos en los analizadores. Los resultados de cada laboratorio en particular pueden diferir de estos valores.

Precisión

La precisión ha sido determinada mediante muestras humanas y controles según un protocolo interno. Repetibilidad* (n = 63), precisión intermedia** (3 alícuotas por serie, 1 serie por día, 21 días). Se han obtenido los siguientes resultados:

Muestra	Repetibilidad*			Precisión intermedia**		
	VM mg/dL	CV mmol/L	CV %	VM mg/dL	CV mmol/L	CV %
Suero humano	201	2,28	1,5	224	2,53	1,8
Precinorm U	113	1,28	0,9	109	1,23	2,4
Precipath U	137	1,55	0,9	131	1,47	2,4

* repetibilidad = precisión intraserie

** precisión intermedia = precisión total/precisión interensayo/precisión día a día

Comparación de métodos

La comparación efectuada entre el test de triglicéridos de Roche con los reactivos líquidos de triglicéridos en los analizadores Roche/Hitachi 917 (y) y Roche/Hitachi 717 (x) proporcionó la siguiente correlación (mg/dL):

Passing/Bablok¹² Regresión lineal
 $y = 0,967x + 5,39$ $y = 0,977x + 2,79$
 $r = 0,998$

Cantidad de muestras de suero humano medidas: 154
 La concentración de las muestras se situó entre 35-1.000 mg/dL (0,4-11,3 mmol/L).

Referencias bibliográficas

1. Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3ª ed. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995.
2. Eggstein M, Kreutz F, Klin Wschr 1966;44:262-267.
3. Bucolo G, David H. Clin Chem 1973;19:476.
4. Wahlefeld AW, Bergmeyer HU, eds. Methods of Enzymatic Analysis, 2ª English ed. New York, NY: Academic Press Inc, 1974:1831.
5. Trinder P. Ann Clin Biochem 1969;6:24.
6. Siedel J et al. AACCC Meeting Abstract 34. Clin Chem 1993;39: 1127.
7. Tietz NW, ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3ª ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Company, 1995:610-611.
8. Click MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
9. Shephard MDS, Whiting MJ. Falsely Low Estimation of Triglycerides in Lipemic Plasma by the Enzymatic Triglyceride Method with Modified Trinder's Chromogen. Clin Chem 1990; Vol 36, No.2, 325-329.
10. Study Group, European Atherosclerosis Society. Strategies for the prevention of coronary heart disease: A policy statement of the European Atherosclerosis Society. European Heart Journal 1987;8:77.
11. Stein EA, Myers GL. National Cholesterol Education Program Recommendations for Triglycerides Measurement: Executive Summary. Clin Chem 1995;41:1421-1426.
12. Passing H, Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

Programación del analizador

Usuarios estadounidenses:

Sírvase consultar la ficha de aplicación y el documento de programación de lavado especial (localizado en la página web MyLabOnline) para obtener información adicional.

Usuarios de los analizadores Roche/Hitachi 912, 917 y MODULAR:
 Introducir los parámetros de aplicación del disquete de aplicación o de la ficha de código de barras, según corresponda.

Analizador Roche/Hitachi 902
Aplicación normal (10 minutos)

No.	<Chemistry>	con R1	con R1/R3
1	Test Name	TG	
2	Assay Code (Mthd)	1 Punto	
3	Assay Code (2. Test)	0	
4	Reaction Time	10	
5	Assay Point 1	35	17
6	Assay Point 2	0	
7	Assay Point 3	0	
8	Assay Point 4	0	
9	Wavelength (SUB)	700	
10	Wavelength (MAIN)	505	
11	Sample Volume	3.0	
12	R1 Volume	250	
13	R1 Pos.	
14	R1 Bottle Size	Large	
15	R2 Volume	0	
16	R2 Pos.	0	
17	R2 Bottle Size	Small	
18	R3 Volume	0	247
19	R3 Pos.	0
20	R3 Bottle Size	Small	Large
21	Calib. Type (Type)	Linear	
22	Calib. Type (Wght)	0	
23	Calib. Conc. 1	0	
24	Calib. Pos. 1	
25	Calib. Conc. 2	
26	Calib. Pos. 2	
27	Calib. Conc. 3	0	
28	Calib. Pos. 3	0	
29	Calib. Conc. 4	0	
30	Calib. Pos. 4	0	
31	Calib. Conc. 5	0	
32	Calib. Pos. 5	0	
33	Calib. Conc. 6	0	
34	Calib. Pos. 6	0	
35	S1 ABS	0	
36	K Factor	10000	
37	K2 Factor	10000	
38	K3 Factor	10000	
39	K4 Factor	10000	
40	K5 Factor	10000	
41	A Factor	0	
42	B Factor	0	
43	C Factor	0	
44	SD Limit	0.1	
45	Duplicate Limit	200	
46	Sens. Limit	970	
47	S1 Abs. Limit (L)	-32000	
48	S1 Abs. Limit (H)	32000	
49	Abs. Limit	0	
50	Abs. Limit (DI)	Increase	
51	Prozone Limit	0	
52	Proz. Limit (Upp/Low)	Lower	
53	Prozone (Endpoint)	35	
54	Expect. Value (L)	
55	Expect. Value (H)	
56	Instr. Fact. (a)	1	
57	Instr. Fact. (b)	0	
58	Key setting	

..... a introducir por el operador

Determinar con R1 en caso de no solicitar la lipasa y el colesterol HDL

LDH

Lactato deshidrogenasa optimizado

cobas®

● Estuche adecuado para el analizador Roche/Hitachi respectivo

Ref.	Frasco	Contenido	902	912	MODULAR	
					P	D
11876961 216	1	REAGENT 6 x 66 mL			●	
	2	REAGENT 6 x 16 mL				
04795024 190	1	REAGENT 6 x 250 mL			●	
	2	REAGENT 6 x 63 mL				●
11489305 216	1	REAGENT 12 x 50 mL	●	●		
	2	REAGENT 6 x 22 mL				

Algunos estuches y analizadores no están disponibles en todos los países. Sírvase consultar al representante local de Roche Diagnostics en cuanto a aplicaciones adicionales.

Español

Información del sistema

Analizadores Roche/Hitachi 912: ACN 206.

Analizadores Roche/Hitachi MODULAR: ACN 672.

Uso previsto

Test in vitro para la determinación cuantitativa de la lactato deshidrogenasa (LDH) en suero y plasma humanos con analizadores automáticos Roche de química clínica.

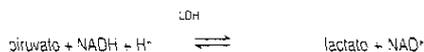
Generalidades^{1,2,3}

La LDH se determina en el diagnóstico y tratamiento de diversas neopatasias tales como la hepatitis vírica aguda, cirrosis y metástasis neoplásicas, así como también en cardiopatías tales como el infarto del miocardio y en afecciones tumores pulmonares y renales. En 1956, Wacker y cols. describieron un método para determinar la LDH empleando el lactato como sustrato y NAD como coenzima. El presente método se deriva de la formulación recomendada por la Sociedad Alemana de Química Clínica (DGKC) en 1972³ y ha sido mejorado en cuanto al rendimiento y la estabilidad.

Principio del test³

Test UV según un método estandarizado.

- Muestra y adición de R1
- *Adición de R2 e inicio de la reacción:



La lactatodeshidrogenasa cataliza la conversión de piruvato a lactato. NADH se oxida a NAD. La velocidad de reducción de NADH, directamente proporcional a la actividad de LDH, se mide fotométricamente.

Reactivos – Soluciones de trabajo

R1 Tampón fosfato: 68 mmol/L, pH 7,5; piruvato $\geq 0,73$ mmol/L; estabilizadores y conservantes

R2 NADH $\geq 1,1$ mmol/L; estabilizadores y conservantes

Medidas de precaución y advertencias

Sólo para el uso diagnóstico in vitro.

Observar las medidas de precaución usuales para la manipulación de reactivos.

Ficha de datos de seguridad a la disposición del usuario profesional que la solicite.

Eliminar los residuos según las normas locales vigentes.

Preparación de los reactivos

R1: El contenido está listo para el uso.

R2: El contenido está listo para el uso.

Conservación y estabilidad

Sin abrir, a 2-8 °C: hasta la fecha de caducidad indicada.

R1: abierto y refrigerado en el analizador, 28 días.

R2: abierto y refrigerado en el analizador, 28 días.

Obtención y preparación de las muestras

Emplear únicamente tubos o recipientes adecuados para recoger y preparar las muestras.

Sólo se han analizado y encontrado aptas las muestras aquí mencionadas.

Suero

Plasma: Tratado con heparina o EDTA.

Los diferentes tipos de muestra fueron analizados en tubos de recogida de muestras seleccionados, comercialmente disponibles en aquel momento, lo cual significa que no fueron analizados todos los tubos de todos los fabricantes. Los sistemas de recogida de muestras de diversos fabricantes pueden contener diferentes materiales que en ciertos casos pueden llegar a afectar los resultados de los análisis. Si las muestras se procesan en tubos primarios (sistemas de recogida de muestras), seguir las instrucciones del fabricante de los tubos.

Analizar inmediatamente después de separar el suero o el plasma del coágulo o de las células.

Estabilidad:⁴ 7 días a 15-25 °C

La muestra puede conservarse durante 4 días a 2-8 °C o bien 6 semanas a -20 °C.

En algunas enfermedades (p.ej. hepatopatías, afecciones músculo-esqueléticas, tumores malignos) puede aumentar el número de las isoenzimas LDH-4 y LDH-5 inestables en muestras refrigeradas y congeladas. Por esto, los pacientes de estas enfermedades pueden presentar un valor erróneo de LDH.

Centrifugar las muestras que contienen precipitado antes de efectuar el test.

Material suministrado

- Consultar la sección "Reactivos – Soluciones de trabajo".

Material requerido (no suministrado)

- Calibrador: C.f.a.s. (Calibrator for automated systems), Ref. 10759350 190, 10759350 360 (para los EE.UU.)
- Controles: Precinorm U, p. ej. Ref. 10171743 122 ó Precinorm U plus, Ref. 12149435 122, 12149435 160 (para los EE.UU.); Precipath U, p. ej. Ref. 10171778 122 ó Precipath U plus, Ref. 12149443 122, 12149443 160 (para los EE.UU.).
- NaCl al 0,9 %
- Equipo usual de laboratorio

Ejecución del test

Para un funcionamiento óptimo del test, observar las instrucciones de la presente metodología referentes al analizador empleado. Consultar el manual del operador del analizador en cuanto a las instrucciones específicas de ensayo. Roche no se responsabiliza del funcionamiento de las aplicaciones no validadas por la empresa. En su caso, el usuario se hace cargo de su definición.

Calibración

Trazabilidad: El presente método ha sido estandarizado frente a un reactivo del sistema Roche utilizando pipetas calibradas junto con un fotómetro manual dando valores absolutos y la absorbividad e específica de sustratos.

S1: NaCl al 0,9 %

S2: C.f.a.s.

Frecuencia de calibraciones

Se recomienda una calibración a 2 puntos:

- tras cambiar de lote de reactivos
- según lo requiera el control de calidad

Control de calidad

Para el control de calidad, emplear el material de control indicado en la sección "Material requerido". Puede emplearse también otro material de control apropiado. Los intervalos y límites de control deben

LDH

Lactato deshidrogenasa optimizado

adaptarse a los requerimientos de cada laboratorio en particular. Los valores deben situarse dentro de los límites establecidos. Cada laboratorio debería establecer mediciones correctivas en caso de obtener valores fuera del intervalo preestablecido. Sirvase cumplir con las regulaciones gubernamentales y las normas locales de control de calidad pertinentes.

Cálculo

El analizador calcula automáticamente la actividad del analito en cada muestra. Factor de conversión: U/L x 0,0167 = μ kat/L

Limitaciones - interferencias

Criterio: Recuperación dentro de $\pm 10\%$ del valor inicial.
Hemólisis: Sin interferencias significativas hasta un índice H de 10 (concentración aproximada de hemoglobina: 10 mg/dL ó 6 μ mol/L).⁵
Ictericidad: Sin interferencias significativas hasta un índice I de 60 (concentración aproximada de bilirrubina conjugada y no conjugada: 60 mg/dL ó 1,026 μ mol/L).⁵
Lipemia (Intralipid): Sin interferencias significativas hasta un índice L de 900. No existe una correlación satisfactoria entre el índice L (correspondiente a la turbidez) y la concentración de triglicéridos.⁵
En casos muy raros pueden obtenerse resultados falsos debidos a la gammaopatía, particularmente del tipo IgM (macroglobulinemia de Waldenstrom).

Con fines diagnósticos, los resultados obtenidos con el test siempre deben evaluarse junto al historial del paciente, los exámenes clínicos y los resultados de otros análisis.

ACCIÓN REQUERIDA

Programa especial de lavado: Los pasos de lavado especial se aplican cuando ciertos tests se utilizan conjuntamente de forma combinada en los analizadores Roche/Hitachi. Las combinaciones de tests que requieren pasos de lavado adicional pueden consultarse en la versión más actual de las listas de "Lavados Adicionales" destinadas a evitar la contaminación por arrastre y en el manual del operador. En los EE.UU., sírvase consultar el documento de programación de lavado especial (en la página web MyLabOnline) y el manual del operador para obtener las instrucciones pertinentes.

En caso de que sea necesario, implemente el lavado especial para evitar la contaminación por arrastre antes de comunicar los resultados del test.

Límites e intervalos

Intervalo de medición

6-1.200 U/L (0,10-20,00 μ kat/L)

Determinar las muestras con actividades más altas por la función de repetición del ciclo. En analizadores sin función de repetición, las muestras con una actividad superior se diluyen manualmente con una solución de cloruro sódico al 0,9 % o con agua destilada o desionizada (p.ej. 1 + 4). El resultado se multiplica por el factor de dilución correspondiente (p.ej. 5).

Analizadores Roche/Hitachi 912:

Determinar las muestras con mayor actividad a través de la función de repetición del ciclo.

ACN 206: La dilución automática de las muestras por la función de repetición del ciclo es de 1:3,5. Los resultados de las muestras diluidas por la función de repetición del ciclo se multiplican automáticamente por el factor 3,5.

Analizadores Roche/Hitachi MODULAR P/D

Determinar las muestras con mayor actividad a través de la función de repetición del ciclo.

ACN 206, ACN 672: La dilución automática de las muestras por la función de repetición del ciclo es de 1:2,5. Los resultados de las muestras diluidas por la función de repetición del ciclo se multiplican automáticamente por el factor 2,5.

Límites inferiores de medición

Límite inferior de detección del test

6 U/L (0,01 μ kat/L)

El límite inferior de detección equivale a la menor concentración medible de analito que pueda distinguirse de cero. Se calcula como el valor situado a tres desviaciones estándar por encima del estándar más bajo (estándar $1 + 3$ DE, repetibilidad, $n = 21$).

cobas®

Valores teóricos

Valores teóricos en adultos^a a 37 °C (calculados):

240-480 U/L (4,00-8,00 μ kat/L)

Se ha empleado el factor 2,00 para convertir los valores del intervalo de referencia de 25 °C a 37 °C.

Los intervalos de referencia para niños figuran en el folleto "Reference ranges for adults and children; preanalytical considerations" de Heil W, Koberstein R y Zawta B (publicado por Roche Diagnostics GmbH, 2004).

Cada laboratorio debería comprobar si los intervalos de referencia pueden aplicarse a su grupo de pacientes y, en caso necesario, establecer sus propios valores.

Datos específicos de funcionamiento del test

A continuación, se indican los datos representativos de funcionamiento obtenidos en los analizadores. Los resultados de cada laboratorio en particular pueden diferir de estos valores.

Precisión

La precisión ha sido determinada mediante muestras humanas y controles según un protocolo interno. Repetibilidad* ($n = 21$), precisión intermedia** (3 alícuotas por serie, 1 serie por día, 21 días). Se han obtenido los siguientes resultados:

Muestra	Repetibilidad*			Precisión intermedia**		
	U/L	μ kat/L	CV %	U/L	μ kat/L	CV %
Suero humano	1.139	19,0	0,8	493	8,23	2,6
Precinorm U	339	5,66	1,3	279	4,66	2,9
Precipath U	587	9,80	1,1	538	8,98	1,0

* repetibilidad = precisión intraserie

** precisión intermedia = precisión total/precisión interserie/precisión día a día

Comparación de métodos

Al comparar la nueva combinación de longitud de onda 546/340 nm (y) y la combinación anteriormente empleada 405/340 nm (x) utilizando los reactivos líquidos de LDH, opt. de Roche en un analizador Roche/Hitachi 717, se obtuvo la siguiente correlación (U/L):

Passing/Bablok⁷

Regresión lineal

$y = 1,007x - 0,195$

$y = 0,996x + 5,038$

$r = 0,999$

Cantidad de muestras de suero humano medidas: 81

La actividad de las muestras varió entre 112-1.997 U/L (1,87-33,3 μ kat/L).

Referencias bibliográficas

1. Thomas L, ed. Labor und Diagnose, 4th ed. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft, 1992.
2. Wacker WEC et al. Metalloenzymes and myocardial infarction. II. Malic and lactic dehydrogenase activities and zinc concentrations in serum. New Eng J Med 1956;255:449-456.
3. Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie: Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKC). J Clin Chem Clin Biochem 1972;10:182-193.
4. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2. 2002.
5. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
6. Weisshaar D et al. Normal ranges of alpha-HBDH, LDH, AP, and LAP as measured with substrate-optimized test charges. Med Welt 1975; 26:387-392.
7. Passing H, Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

Programación del analizador

Usuarios de los analizadores Roche/Hitachi 912 y MODULAR:

Introducir los parámetros de aplicación del disquete de aplicación o de la ficha de código de barras, según corresponda.

● Estuche adecuado para el analizador Roche/Hitachi respectivo

Ref.	Frasco	Contenido	902	912	MODULAR	
					P	D
12132672 216	1	REAGENT 6 x 80 mL			●	
	2	REAGENT 6 x 15 mL				
04580591 190	1	REAGENT 6 x 250 mL			●	
04580613 190	2	REAGENT 6 x 63 mL				●
12132524 216	1	REAGENT 12 x 22 mL	●	●		
	2	REAGENT 6 x 10 mL				
12132605 216	1	REAGENT 6 x 100 mL		●		
	2	REAGENT 3 x 46 mL				

Algunos estuches y analizadores no están disponibles en todos los países. Sírvase consultar al representante local de Roche Diagnostics en cuanto a aplicaciones adicionales.

Español**Información del sistema**

Analizadores Roche/Hitachi: ACN 057.

Uso previsto

Prueba in vitro para la determinación cuantitativa de la creatininasas (CK) en suero y plasma humanos en analizadores automáticos Roche de química clínica.

Generalidades^{1,2,3,4,5,6,7,8,9}

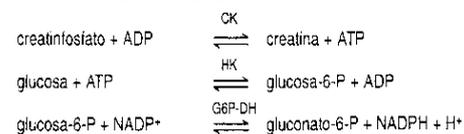
La creatininasas (CK) es una enzima dímera que aparece en cuatro isoformas: una isoenzima mitocondrial y las tres isoenzimas citosólicas CK-MM (tipo músculo esquelético), CK-BB (tipo cerebro) y CK-MB (tipo miocardio). Las actividades de la CK y de sus isoenzimas se determinan en el diagnóstico y el seguimiento del infarto de miocardio, así como de musculopatías tales como la distrofia muscular progresiva de Duchenne. En lesiones del músculo cardíaco, como por ejemplo en el infarto del miocardio, la CK se libera de las células dañadas del músculo cardíaco. El aumento de la actividad de la CK en la sangre puede comprobarse 4 horas después de haber ocurrido el infarto de miocardio. Al cabo de 12-24 horas alcanza su nivel máximo y se reduce a su rango normal tras 3-4 días.

El método de determinación con creatinofosfato y ADP fue descrito primero por Oliver, modificado por Rosalki y perfeccionado por Szasz para alcanzar condiciones de test óptimas. La CK se inactiva rápidamente al oxidarse los grupos sulfhidrílos en su centro activo. Después de añadir acetilcisteína (NAC), la enzima puede volver a activarse. Con la adición de pentafofato de diadenosina y AMP se evitan interferencias por la adenilatoquinasas.

En 1977, la Sociedad Alemana de Química Clínica (DGKC) y en 1990 la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) recomendaron métodos estandarizados para determinar la CK con reacción inversa y activación por NAC. En el año 2002, la IFCC confirmó sus recomendaciones y las extendió para 37 °C.⁸ El presente método se deriva de la formulación recomendada por la IFCC y ha sido mejorado en cuanto al rendimiento y la estabilidad.

Principio del test^{7,9}**Test UV**

- Muestra y adición de R1
- Adición de R2 e inicio de la reacción:



Cantidades equimolares de NADPH y ATP se forman simultáneamente. La velocidad de formación de NADPH medida por fotometría es directamente proporcional a la actividad de CK.

Reactivos - Soluciones de trabajo

- R1** Tampón imidazol: 123 mmol/L, pH 6,5 (37 °C); EDTA: 2,46 mmol/L, Mg²⁺: 12,3 mmol/L; ADP: 2,46 mmol/L; AMP: 6,14 mmol/L; diadenosina pentafofato: 19 μmol/L; NADP (levadura): 2,46 mmol/L; N-acetilcisteína: 24,6 mmol/L; HK (levadura): ≥ 36,7 μkat/L; G6P-DH (E. coli): ≥ 23,4 μkat/L; conservante, estabilizante, aditivo.
- R2** Tampón CAPSO^a: 20 mmol/L, pH 8,8 (37 °C); glucosa: 120 mmol/L; EDTA: 2,46 mmol/L; fosfato de creatina: 184 mmol/L; conservante, estabilizante, aditivo.

a) CAPSO: ácido 3-(ciclohexilamino)-2-hidroxil-1-propanosulfónico

Medidas de precaución y advertencias

Sólo para el uso diagnóstico in vitro.

Observar las medidas de precaución usuales para la manipulación de reactivos.

Ficha de datos de seguridad a la disposición del usuario profesional que la solicite.

Eliminar los residuos según las normas locales vigentes.

Preparación de los reactivos

R1: El contenido está listo para el uso.

R2: El contenido está listo para el uso.

Conservación y estabilidad

Sin abrir, a 2-8 °C: hasta la fecha de caducidad. No congelar.

R1: abierto y refrigerado en el analizador, 28 días.

R2: abierto y refrigerado en el analizador, 28 días.

Obtención y preparación de las muestras

Emplear únicamente tubos o recipientes adecuados para recoger y preparar las muestras.

Sólo se han analizado y encontrado aptas las muestras aquí mencionadas. Suero

Plasma: Tratado con heparina (Li, NH₄⁺) o EDTA (K₂, K₃).

No emplear otros anticoagulantes.

Los diferentes tipos de muestra fueron analizados en tubos de recogida de muestras seleccionados, comercialmente disponibles en aquel momento, lo cual significa que no fueron analizados todos los tubos de todos los fabricantes. Los sistemas de recogida de muestras de diversos fabricantes pueden contener diferentes materiales que en ciertos casos pueden llegar a afectar los resultados de los análisis. Si las muestras se procesan en tubos primarios (sistemas de recogida de muestras), seguir las instrucciones del fabricante de los tubos. Centrifugar las muestras que contienen precipitado antes de efectuar el test.

Advertencia: Se pueden obtener resultados divergentes en suero y en plasma debido a diferentes grados de hemólisis como consecuencia del procedimiento de obtención de muestras.

Estabilidad:¹⁰ 2 días a 15-25 °C

7 días a 2-8 °C

4 semanas a (-15)-(-25) °C

Material suministrado

Consultar la sección "Reactivos - Soluciones de trabajo" en cuanto a los reactivos suministrados.

CK

Creatininasas, líquido, conforme con la IFCC

cobas®

Material requerido (no suministrado)

- Calibrador: C.f.a.s. (Calibrator for automated systems), Ref. 10759350 190, 10759350 360 (para los EE.UU.)
- Controles: Precinorm U, p.ej. Ref. 10171743 122, o bien Precinorm U plus, Ref. 12149435 122, 12149435 160 (para los EE.UU.); Precipath U, p.ej. Ref. 10171773 122, o bien Precipath U plus, Ref. 12149443 122, 12149443 160 (para los EE.UU.); PreciControl ClinChem Multi 1, Ref. 05117003 190, 05947626 160 (para los EE.UU.); PreciControl ClinChem Multi 2, Ref. No. 05117216 190, 05947774 160 (para los EE.UU.)
- NaCl al 0,9 %
- Equipo usual de laboratorio

Ejecución del test

Para un funcionamiento óptimo del test, observar las instrucciones de la presente metódica referentes al analizador empleado. Consultar el manual del operador del analizador en cuanto a las instrucciones específicas de ensayo. Roche no se responsabiliza del funcionamiento de las aplicaciones no validadas por la empresa. En su caso, el usuario se hace cargo de su definición.

Calibración

Trazabilidad: El presente método ha sido estandarizado frente al método original de la IFCC⁹, el cual emplea pipetas calibradas y un fotómetro manual que proporciona valores absolutos y la absorptividad específica del sustrato, ϵ . S1: NaCl al 0,9 %

S2: C.f.a.s. (Calibrator for automated systems)

Intervalo de calibraciones:

Se recomienda una calibración a 2 puntos:

- tras cambiar de lote de reactivos
- según lo requiera el control de calidad

Control de calidad

Para el control de calidad, emplear el material de control indicado en la sección "Material requerido". Puede emplearse también otro material de control apropiado. Los intervalos y límites de control deben adaptarse a los requerimientos de cada laboratorio en particular.

Los valores deben situarse dentro de los límites establecidos. Cada laboratorio debería establecer mediciones correctivas en caso de obtener valores fuera del intervalo preestablecido.

Sírvase cumplir con las regulaciones gubernamentales y las normas locales de control de calidad pertinentes.

Cálculo

El analizador calcula automáticamente la actividad del analito en cada muestra.

Factor de conversión: U/L x 0,0167 = μ kat/L

Limitaciones del análisis - interferencias

Criterio: Recuperación dentro de ± 10 % del valor inicial.

Ictericia:¹¹ Sin interferencias significativas hasta un índice I de 60 (concentración de la bilirrubina conjugada y no conjugada: 1,026 μ mol/L ó 60 mg/dL).

Hemólisis:¹¹ Sin interferencias significativas hasta un índice H de 100 (concentración de hemoglobina: 62,1 μ mol/L ó 100 mg/dL).

Lupemia (Intralipid):¹¹ Sin interferencia significativa hasta un índice L de 1.000. No existe una concordancia satisfactoria entre el índice L (correspondiente a la turbidez) y la concentración de triglicéridos.

El fármaco cianokit (hidroxocobalamina) en concentraciones terapéuticas interfiere en el resultado.

Fármacos: No se han registrado interferencias con paneles de fármacos de uso común en concentraciones terapéuticas.^{12,13}

En casos muy raros pueden obtenerse resultados falsos debidos a la gammapatía, particularmente del tipo IgM (macroglobulinemia de Waldenström).

Con fines diagnósticos, los resultados obtenidos con el test siempre deben evaluarse junto al historial del paciente, los exámenes

clínicos y los resultados de otros análisis.

ACCIÓN REQUERIDA

Programa especial de lavado: Los pasos de lavado especial se aplican cuando ciertos tests se utilizan conjuntamente de forma combinada en los

analizadores Roche/Hitachi. Las combinaciones de tests que requieren pasos de lavado adicional pueden consultarse en la versión más actual de las listas de "Lavados Adicionales" destinadas a evitar la contaminación por arrastre y en el manual del operador. En los EE.UU., sírvase consultar el documento de programación de lavado especial (en la página web MyLabOnline) y el manual del operador para obtener las instrucciones pertinentes.

En caso de que sea necesario, implemente el lavado especial para evitar la contaminación por arrastre antes de comunicar los resultados del test.

Límites e intervalos

Intervalo de medición

0,12-33,4 μ kat/L (7-2.000 U/L)

Analizadores Roche/Hitachi 912:

Determinar las muestras con concentraciones superiores por la función de repetición del ciclo. La dilución automática de las muestras por la función de repetición del ciclo es de 1:3,5. Los resultados de las muestras diluidas por la función de repetición del ciclo se multiplican automáticamente por el factor 3,5.

Analizadores Roche/Hitachi MODULAR P:

Determinar las muestras con concentraciones superiores por la función de repetición del ciclo. La dilución automática de las muestras por la función de repetición del ciclo es de 1:11. Los resultados de las muestras diluidas por la función de repetición del ciclo se multiplican automáticamente por el factor 11. En analizadores sin función de repetición, las muestras con una actividad superior se diluyen manualmente con una solución de cloruro sódico al 0,9 % o con agua destilada o desionizada (p.ej. 1 + 10). El resultado se multiplica por el factor de dilución correspondiente (p.ej. 11).

Límites inferiores de medición

Límite del blanco (LdB) y límite de detección (LdD)

LdB = 0,12 μ kat/L (7 U/L)

LdD = 0,12 μ kat/L (7 U/L)

Tanto el límite del blanco como el límite de detección fueron determinados cumpliendo con los requerimientos EP17-A del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute). El límite del blanco es el valor del percentil 95 obtenido a partir de $n \geq 60$ mediciones de muestras libres de analito en numerosas series independientes.

El límite del blanco corresponde a la concentración debajo de la cual se encuentran, con una probabilidad del 95 %, las muestras sin analito.

El límite de detección se determina basándose en el límite del blanco y en la desviación estándar de muestras de baja concentración.

El límite de detección corresponde a la menor concentración de analito detectable (valor superior al límite del blanco con una probabilidad del 95 %). Los valores inferiores al límite de detección ($< 0,12 \mu$ kat/L ó < 7 U/L) no aparecen indicados por el analizador.

Valores teóricos

Los intervalos de referencia dependen en gran medida del grupo de pacientes y de la situación clínica específica.

Para personas sanas, según Klein et al.:¹⁴

CK	μ kat/L	U/L
Hombres	0,65-5,14	39-308
Mujeres	0,43-3,21	26-192

Valores de consenso:¹⁵

CK	μ kat/L	U/L
Hombres	< 3,20	< 190
Mujeres	< 2,85	< 170

Valores de consenso:¹⁵

CK-MB	μ kat/L	U/L
Hombres/mujeres	< 0,42	< 25

CK

Creatinincinasa, líquido, conforme con la IFCC

cobas®

Infarto de miocardio: La probabilidad de que se produzca un daño miocárdico es alta si se cumplen las tres siguientes condiciones:¹⁶

	µkat/L	U/L
1 CK _{cremúsculos}	> 3,17	> 190
CK _{músculos}	> 2,79	> 167
2 CK-MB	> 0,40	> 24
3 La actividad de CK-MB es el 6-25 % de la actividad de la CK total.		

Según Tietz¹⁷

CK	µkat/L	U/L
Hombres > 19 años	0,33-3,34	20-200
Mujeres > 19 años	0,33-3,01	20-180

Los valores de referencia según Klein et al. se basan en el percentil 95 obtenido de un grupo de personas sanas sin actividad física intensa (202 hombres y 217 mujeres).

Para garantizar una alta sensibilidad en el diagnóstico de cardiopatías, se recomienda emplear los valores indicados por Tietz. La eventual pérdida de especificidad diagnóstica puede compensarse determinando adicionalmente CK-MB y/o la troponina T. Si existe la sospecha de un infarto de miocardio, se recomienda seguir las propuestas estratégicas indicadas en el documento de consenso de cardiólogos europeos y americanos.¹⁸

Ante la sospecha de un infarto de miocardio, en caso de que los valores medidos sean inferiores a los límites indicados, puede tratarse de un infarto reciente. En este caso, repita las determinaciones al cabo de 4 horas.

En personas sanas, los valores de CK pueden variar según el grado de ejercicio físico y la raza.^{17,19}

Cada laboratorio debería comprobar si los intervalos de referencia pueden aplicarse a su grupo de pacientes y, en caso necesario, establecer sus propios valores.

Datos específicos de funcionamiento del test

A continuación, se indican los datos representativos de funcionamiento obtenidos en los analizadores. Los resultados de cada laboratorio en particular pueden diferir de estos valores.

Precisión

La precisión ha sido determinada mediante muestras humanas y controles según un protocolo interno. Repetibilidad* (n = 21), precisión intermedia** (3 alícuotas por serie, 1 serie por día, 21 días). Se han obtenido los siguientes resultados:

Muestra	Repetibilidad*			Precisión intermedia**		
	VM µkat/L	DE U/L	CV %	VM µkat/L	DE U/L	CV %
Suero humano	3,17	190	0,6	3,05	183	0,4
Precinorm U	2,72	163	0,5	2,67	160	0,7
Precioath U	8,29	497	0,5	8,20	492	0,4

* repetibilidad = precisión intraserie

** precisión intermedia = precisión total/precisión intraserie/precisión día a día

Comparación de métodos

La comparación efectuada entre el test líquido CK-NAC de Roche[®] (y) y el test CK-NAC IFCC a 37 °C (x) realizada en el espectrofotómetro Specord 200 ha dado la correlación siguiente (U/L):

$$\text{Passing/Bablok}^{20} \quad \text{Regresión lineal}$$

$$y = 1,01x - 2,86 \quad y = 1,01x - 4,65$$

$$r = 0,991 \quad r = 1,00$$

Cantidad de muestras de suero humano medidas: 75

La actividad de las muestras se sitúa entre 0,87-15,9 µkat/L (52-950 U/L).

o) Estandarización frente al método CK-NAC IFCC (37 °C) con determinación manual y cálculo a través de la "absorptividad molar";

Referencias bibliográficas

1. Thomas L, ed. Labor und Diagnose, 4th ed. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft, 1992.
2. Stein W. Laboratory Diagnosis of Acute Myocardial Infarction. Darmstadt: GIT Verlag, 1988:34-37.
3. Oliver IT. A spectrophotometric method for the determination of creatine phosphokinase and myokinase. Biochem J 1955;61:118-122.
4. Rosalki SB. An improved procedure for serum creatine phosphokinase determination. J Lab Clin Med 1967;69:696-705.
5. Szasz G et al. Creatine kinase in serum: 1. Determination of optimum reaction conditions. Clin Chem 1976;22:650-656.
6. Standard method for the determination of creatine kinase activity. J Clin Chem Clin Biochem 1977;15:249-260.
7. Hørdler M, Elser RC, Gerhardt M et al. Approved Recommendation on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes - Part 7. IFCC Method for Creatine Kinase. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1991;29:435-456.
8. Schumann G et al. IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37 °C - Part 2. Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Concentrations of Creatine Kinase. Clin Chem Lab Med 2002;40(6):635-642.
9. Klauke R, Schmidt E, Lorentz K. Recommendations for carrying out standard ECCLS procedures (1988) for the catalytic concentrations of creatine kinase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and γ-glutamyltransferase at 37 °C. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1993;31:901-909.
10. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes: Preanalytical Variables. Foliolet incluido en: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag 1996.
11. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
12. Breuer J. Report on the Symposium "Drug Effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1998;34:385-386.
13. Sonntag O, Schofer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.
14. Klein G, Berger A, Bertholf R et al. Abstract: Multicenter Evaluation of Liquid Reagents for CK, CK-MB and LDH with Determination of Reference Intervals on Hitachi Systems. Clin Chem 2001; 47:Suppl. A30.
15. Thomas L, Müller M, Schumann G, Weidemann G et al. Consensus of DGKL and VDGH for interim reference intervals on enzymes in serum. J Lab Med 2005;29:301-308.
16. Stein W. Strategie der klinisch-chemischen Diagnostik des frischen Myokardinfarktes. Med Welt 1985;36:572-577.
17. Wu AHB, ed. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests, 4th edition. St. Louis (MO): Saunders Elsevier; 2006:306-307.
18. Myocardial Infarction Redefined - A Consensus Document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction. Eur Heart J 2000;21:1502-1513.
19. Black HR, Quallich H, Gareleck CB. Racial differences in serum creatine kinase levels. Am J Med 1986;81:479-487.
20. Passing H, Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

Programación del analizador

Usuarios estadounidenses:

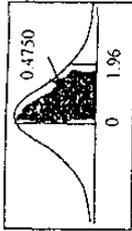
Sírvase consultar la ficha de aplicación y el documento de programación de lavado especial (localizado en la página web MyLabOnline) para obtener información adicional.

Usuarios de los analizadores Roche/Hitachi 912 y MODULAR:

Introducir los parámetros de aplicación del disquete de aplicación o de la ficha de código de barras, según corresponda.

APENDICE 1

Proporción de área para la
Distribución normal estándar

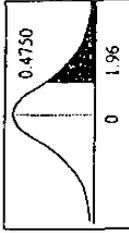


z	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0.0	0.0000	0.0040	0.0080	0.0120	0.0160	0.0199	0.0239	0.0279	0.0319	0.0359
0.1	0.0398	0.0438	0.0478	0.0517	0.0557	0.0596	0.0636	0.0675	0.0714	0.0754
0.2	0.0793	0.0832	0.0871	0.0910	0.0948	0.0987	0.1026	0.1064	0.1103	0.1141
0.3	0.1179	0.1217	0.1255	0.1293	0.1331	0.1368	0.1406	0.1443	0.1480	0.1517
0.4	0.1554	0.1591	0.1628	0.1664	0.1700	0.1737	0.1772	0.1808	0.1844	0.1879
0.5	0.1915	0.1950	0.1985	0.2019	0.2054	0.2088	0.2123	0.2157	0.2190	0.2224
0.6	0.2257	0.2291	0.2324	0.2357	0.2389	0.2422	0.2454	0.2486	0.2518	0.2549
0.7	0.2580	0.2611	0.2642	0.2673	0.2704	0.2734	0.2764	0.2794	0.2823	0.2852
0.8	0.2881	0.2910	0.2939	0.2967	0.2996	0.3023	0.3051	0.3078	0.3106	0.3133
0.9	0.3159	0.3186	0.3212	0.3238	0.3264	0.3289	0.3315	0.3340	0.3365	0.3389
1.0	0.3413	0.3438	0.3461	0.3485	0.3508	0.3531	0.3554	0.3577	0.3599	0.3621
1.1	0.3643	0.3665	0.3686	0.3708	0.3729	0.3749	0.3770	0.3790	0.3810	0.3830
1.2	0.3849	0.3869	0.3888	0.3907	0.3925	0.3944	0.3962	0.3980	0.3997	0.4015
1.3	0.4032	0.4049	0.4066	0.4082	0.4099	0.4115	0.4131	0.4147	0.4162	0.4177
1.4	0.4192	0.4207	0.4222	0.4236	0.4251	0.4265	0.4279	0.4292	0.4306	0.4319
1.5	0.4332	0.4345	0.4357	0.4370	0.4382	0.4394	0.4406	0.4418	0.4429	0.4441
1.6	0.4452	0.4463	0.4474	0.4484	0.4495	0.4505	0.4515	0.4525	0.4535	0.4545
1.7	0.4554	0.4564	0.4573	0.4582	0.4591	0.4599	0.4608	0.4616	0.4625	0.4633
1.8	0.4641	0.4649	0.4656	0.4664	0.4671	0.4678	0.4686	0.4693	0.4699	0.4706
1.9	0.4713	0.4719	0.4726	0.4732	0.4738	0.4744	0.4750	0.4756	0.4761	0.4767
2.0	0.4772	0.4778	0.4783	0.4788	0.4793	0.4798	0.4803	0.4808	0.4812	0.4817
2.1	0.4821	0.4826	0.4830	0.4834	0.4838	0.4842	0.4846	0.4850	0.4854	0.4857
2.2	0.4861	0.4864	0.4868	0.4871	0.4875	0.4878	0.4881	0.4884	0.4887	0.4890
2.3	0.4893	0.4896	0.4898	0.4901	0.4904	0.4906	0.4909	0.4911	0.4913	0.4916
2.4	0.4918	0.4920	0.4922	0.4925	0.4927	0.4929	0.4931	0.4932	0.4934	0.4936
2.5	0.4938	0.4940	0.4941	0.4943	0.4945	0.4946	0.4948	0.4949	0.4951	0.4952
2.6	0.4953	0.4955	0.4956	0.4957	0.4959	0.4960	0.4961	0.4962	0.4963	0.4964
2.7	0.4965	0.4966	0.4967	0.4968	0.4969	0.4970	0.4971	0.4972	0.4973	0.4974
2.8	0.4974	0.4975	0.4976	0.4977	0.4977	0.4978	0.4979	0.4979	0.4980	0.4981
2.9	0.4981	0.4982	0.4982	0.4983	0.4984	0.4984	0.4985	0.4985	0.4986	0.4986
3.0	0.4987	0.4987	0.4987	0.4988	0.4988	0.4988	0.4988	0.4988	0.4989	0.4989
3.1	0.4990	0.4991	0.4991	0.4991	0.4992	0.4992	0.4992	0.4992	0.4993	0.4993
3.2	0.4993	0.4993	0.4994	0.4994	0.4994	0.4994	0.4994	0.4995	0.4995	0.4995
3.3	0.4995	0.4995	0.4996	0.4996	0.4996	0.4996	0.4996	0.4996	0.4997	0.4997
3.4	0.4997	0.4997	0.4997	0.4997	0.4997	0.4997	0.4997	0.4997	0.4997	0.4998
3.5	0.4998	0.4998	0.4998	0.4998	0.4998	0.4998	0.4998	0.4998	0.4998	0.4998
3.6	0.4998	0.4998	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999
3.7	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999
3.8	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999
3.9	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000

Ejemplo: para $z = 1.96$, el área sombreada es 0.4750 del área total de 1.0000

APENDICE 2

Proporción de área para la
Distribución t.



g/(v)	0.10	0.05	0.025	0.01	0.005
1	3.078	6.314	12.706	31.821	62.657
2	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925
3	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841
4	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604
5	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032
6	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707
7	1.415	1.896	2.365	2.988	3.499
8	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355
9	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250
10	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169
11	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106
12	1.356	1.782	2.179	2.681	3.065
13	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012
14	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977
15	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947
16	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921
17	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898
18	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878
19	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861
20	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845
21	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831
22	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819
23	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807
24	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797
25	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787
26	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779
27	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771
28	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763
29	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756
30	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750
40	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704
60	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660
120	1.289	1.658	1.980	2.358	2.617
∞	1.282	1.645	1.960	2.328	2.576

Ejemplo: para que el área sombreada represente el 0.05 del área total de 1.0, el valor de t con 10 gl (grados de libertad) es 1.812