



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ

Facultad ciencias de la Salud

Carrera de Laboratorio Clínico

Manual de procedimientos de laboratorio clínico

TEMA:

Plan de evaluación de aprendizaje previo a prácticas preprofesionales.
Carrera de Laboratorio Clínico. Facultad Ciencias de la Salud.

Autores:

Lic. Jaqueline Mera Chica. Responsable de Prácticas Preprofesionales.

Lic. Rober Ormaza. Docente colaborador de la carrera.

Maholy Bello Mera. Estudiante.

Milton Caiza Triviño. Estudiante.

2024 - 2



CONTENIDO

Título de la propuesta:	8
Unidad ejecutora:.....	8
Responsables:	8
Duración en etapas	8
Justificación	9
Matriz del Marco Lógico	10
Estrategia de sostenibilidad	11
Contenido de la propuesta	11
Estrategias – Actividades	14
FASE PRE-ANALÍTICA.....	14
Principales causas que alteran el resultado del laboratorio	15
Fluctuación cronobiológica:	15
Sexo:	15
Edad:	15
Posición:	15
Actividad física:.....	16
Ayuno:	16
Utilización de drogas de abuso:.....	16
Toma de muestras	16
Factores predisponentes de la muestra:	16
Preparación del paciente:.....	16
Postura:	17
Materiales para la obtención de la muestra	17
Tubos	17
Consideraciones de la toma de sangre venosa.....	18
Evaluación de Laboratorio – Protocolos por áreas	21



ÁREA DE HEMATOLOGÍA.....	21
Anticoagulantes	21
Procedimientos básicos en el laboratorio de hematología	22
Toma de Muestra	22
Equipo Básico Necesario.....	22
Biometría Hemática Completa (BHC)	22
Frotis de Sangre Periférica y Cuenta Diferencial	23
Esquema de un frotis sanguíneo con indicación de las diferentes áreas que la componen y la distribución celular de la misma.	25
Patrón a seguir para realizar la cuenta diferencial en un frotis.....	26
Valores de referencia	26
Pruebas Especializadas	26
Velocidad de Sedimentación Globular (VSG)	26
Reticulocitos	27
ÁREA DE HEMOSTASIA - COAGULACIÓN	29
Recomendaciones generales para el laboratorio de coagulación	29
Procedimientos básicos en el laboratorio de hemostasia – coagulación	30
Tiempo de sangrado	30
Tiempo de Coagulación de Sangre Total	30
Tiempo de Protrombina (TP).....	31
Tiempo Parcial de Tromboplastina (TPT).....	31
ÁREA DE BIOQUÍMICA	32
Etapa pre-analítica	32
Causas de Variación Previas a la Recolecta	32
Sustancias interferentes	32
Pruebas de Funcionamiento Renal	33
Ácido Úrico	33
Urea	33



Creatinina	34
Equilibrio Hidroeléctrico y gases en sangre.....	35
Sodio.....	35
Potasio	35
Cloruro.....	36
Metabolismo óseo y mineral	36
Calcio.....	36
Fósforo.....	36
Magnesio	37
Metabolismo de carbohidratos y lípidos.....	37
Glucosa.....	37
Glucosa postprandial	37
Prueba de Tolerancia Oral a la Glucosa	38
Hemoglobina Glicosilada y su fracción A1c (HbA1c).....	38
Colesterol Total	38
Fracciones de Colesterol (HDL, LDL y VLDL)	39
Triglicéridos	39
Pruebas de Funcionamiento Hepático	39
Bilirrubina total y directa.....	39
Albúmina	40
Proteínas Totales	40
Enzimología Clínica.....	41
Fosfatasa Alcalina ALP.....	41
Gamma Glutamil Transferasa (γ -GT/GGT)	41
Aspartato aminotransferasa- GOT (AST).....	41
Pruebas de Funcionamiento Cardíaco.....	42
Alanina aminotransferasa (GPT/ALT)	42
Creatin cinasa (CK)	42



Lactato deshidrogenasa (LDH).....	42
Troponina Cardíaca	42
CK-MB	43
Pruebas de Funcionamiento Pancreático	43
Lipasa LPS.....	43
Alfa-Amilasa (AMS)	43
Fosfatasa ácida total y prostática	43
GASOMETRÍA	44
Toma de muestra:	44
Conservación y transporte	44
Interpretación básica de los resultados	45
Valores de referencia:.....	47
Algoritmo diagnóstico de alteraciones equilibrio ácido-base en gasometrías arteriales	47
ÁREA DE SEROLOGÍA – INMUNOLOGÍA.....	48
Pruebas rápidas inmunológicas – serológicas:.....	48
VDRL Test	48
Aso Antiestreptolisinas látex	48
Leptospira IGM	49
TORCH.....	50
Proteína C Reactiva	50
Factor Reumatoide.....	51
Reacciones febriles	52
Prueba inmunológica de embarazo – Tiras de hCG	52
HIV 1 y 2.....	53
Hepatitis.....	54
Sífilis.....	54
Método inmunocromatográfico	56
ÁREA DE MICROBIOLOGÍA	57



Principios de la Garantía de Calidad.....	57
Toma y selección de la muestra.....	57
Procesamiento de la muestra.	57
Medios y reactivos.....	57
Equipos	57
Métodos	57
Fundamento de la prueba y sus limitaciones	57
Referencias, documentación e informes.....	57
Seguridad.....	57
Aspectos de Seguridad en el Laboratorio.....	58
Los diez mandamientos de seguridad básica en el laboratorio	58
Equipo de protección personal (EPP).....	59
Descontaminación	59
Esterilización	59
Desinfección	59
Obtención y el procesamiento de muestras	60
Urocultivo.....	60
Técnicas de hemocultivo	61
Retrocultivo	63
Líquido cefalorraquídeo (LCR).....	64
Otros líquidos corporales: pleural, sinovial, peritoneal.....	65
Secreción nasofaríngea.....	66
Exudado de oído medio	67
ÁREA DE UROANÁLISIS	68
Examen físico	68
Examen químico.....	70
Preparación y examen del sedimento urinario.....	72
ÁREA DE COPROLOGÍA	74



ÁREA DE BIOLOGÍA MOLECULAR	74
HIV-1 GeneXpert	74
Tuberculosis GeneXpert	75
CONTROLES	77
Control Interno	77
Control Externo	77
Mantenimiento de Equipos	77
Notas Importantes	77
Bibliografía	82



PROPUESTA: Gestión Educativa.

1. **Título de la propuesta:** Plan de evaluación de aprendizaje previo a prácticas preprofesionales. Carrera de Laboratorio Clínico. Facultad Ciencias de la Salud.
2. **Unidad ejecutora:** Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí. Facultad Ciencias de la Salud. Carrera de Laboratorio Clínico.
3. **Responsables:**
 - Autoridades.
 - Docentes.
 - Estudiantes.
4. **Duración en etapas**
 - a) **Diagnóstico:** se hizo una autoevaluación en la carrera de Laboratorio Clínico para conocer y analizar las prácticas laborales de los estudiantes de 9^{no} semestre de la carrera, su formación académica, relación con el perfil de egreso y perfil profesional con la finalidad de elaborar un plan de resultados de aprendizaje previo al externado o prácticas preprofesionales, esta etapa se cumplió en el mes de agosto 2024, en el cual se procesó un informe contenido en los anexos referentes al árbol de objetivos de estrategias y de involucrados.
 - b) **Socialización:** la socialización de la propuesta se realizó durante la última semana del mes de agosto 2024.
 - c) **Planeación:** la planeación de la propuesta se realizará en el mes de septiembre 2024; donde se reunirá el equipo del proyecto para delimitar los parámetros y hacer entrega a las autoridades para su aprobación,
 - d) **Ejecución:** se ejecutará desde diciembre 2024 hasta enero 2025, donde se realizarán talleres, orientaciones a estudiantes y docentes con el objetivo de obtener una adecuada evaluación de resultados de aprendizajes previo a las practicas preprofesionales.
 - e) **Asesoría y seguimiento:** la asesoría será permanente a los estudiantes de 8vo semestre de la Carrera de Laboratorio Clínico con respecto a la formación académica previo a las practicas preprofesionales.
 - f) **Evaluación:** la evaluación final de la propuesta se realizará en el mes de enero 2024, esta evaluación se hará de forma presencial por medio de recepción de pruebas escritas previo a estrategias para un aprendizaje significativo.
 - g) **Rendición de cuentas:** se entregarán los resultados de evaluación de aprendizaje previo a prácticas preprofesionales mediante socialización de informes.



5. Justificación

La docencia enfrenta diversos retos y demandas, debido a las transformaciones globales de orden internacional y el avance del reordenamiento de las economías mundiales en torno al valor de la tecnología, han puesto en el ojo del huracán al sistema educativo. En ellos recae la responsabilidad de la sociedad del conocimiento, lo que nos exige modificar las estrategias que permitan encontrar el equilibrio entre los acelerados avances económicos, técnicos y tecnológicos, el desarrollo sostenible y sustentable que garanticen el desarrollo del contexto social.

En este contexto de la educación, la calidad significa el potencial que brinda la formación profesional para el mundo laboral, la eficacia, la capacidad de prepararse y desarrollarse académicamente con visión científica humanista, para ello la Carrera garantizará la formación continua y evaluación de resultados de aprendizaje, articulando el plan previo practicas preprofesionales.

La Carrera de laboratorio Clínico de la Facultad de Ciencias de la Salud, sin apartarse del concepto de educación comprometida con la búsqueda del desarrollo sostenido y sustentable de la Provincia de Manabí y del país, aporta significativamente en el mejoramiento de las condiciones de vida para preservar la salud de la población, trabaja de manera multidisciplinaria para promocionar, prevenir, diagnosticar en el libre espacio de su profesión.

Los resultados de aprendizaje y competencias profesionales son necesarios para el futuro desempeño profesional, en el manejo de métodos, metodologías, modelos, protocolos, procesos y procedimientos que garanticen al mejoramiento de la calidad de vida, el medio ambiente en un enfoque de derechos, igualdad e interculturalidad, pensamiento universal que se promoverá en la formación profesional que ofrece la carrera.

Es así que la Carrera de Laboratorio Clínico implementará como medio de evaluación previo practicas preprofesionales; la valoración de aprendizajes a través del desarrollo del pensamiento y aplicación de métodos activos en los diferentes niveles de conocimiento, y aplicación con actitud por parte de los estudiantes para su fortalecimiento en las prácticas laborales.



6. Matriz del Marco Lógico

Resumen Narrativo	Indicadores	Medios de Verificación	Supuestos
<p>Fin</p> <p>Aportar al mejoramiento de enseñanza - aprendizaje de los estudiantes de 8vo semestre Carrera de Laboratorio Clínico previo a prácticas preprofesionales.</p>	<p>Para finales de enero 2025 se habrá mejorado en un 60% la formación del estudiante previo a prácticas preprofesionales.</p>	<p>Actas - Informes</p>	<p>Formación satisfactoria de los estudiantes para realizar talleres y capacitaciones previo examen - evaluación de resultados de aprendizaje.</p>
<p>Propósito</p> <p>Implementar un plan de evaluación de resultados de aprendizaje previo a prácticas preprofesionales.</p>	<p>Para finales de diciembre 2024 se habrán capacitado el 80% de los estudiantes con nuevas estrategias de enseñanza - aprendizaje a través de talleres - cursos.</p>	<p>Encuestas - Registros de asistencia - Evaluación - Informe de logros alcanzados.</p>	<p>Docentes implementando las nuevas estrategias alcanzadas, éxito en el proceso enseñanza - aprendizaje, intra y extra.</p>
<p>Producto</p> <p>1.1. Se cuenta con estudiantes formados que aportan con resultados de aprendizaje y competencias que requiere el perfil de egreso y profesional.</p> <p>1.2. Se define la existencia de docentes que favorece a este proceso de enseñanza - aprendizaje a través de talleres, orientaciones y formación continua.</p> <p>1.3. Se cuenta con propuestas de directivos para mejorar la calidad del proceso de evaluación de resultados de aprendizaje.</p>	<p>1.1. Para diciembre 2024 el 100% de estudiantes de 8vo se encontrarán participando en los diferentes cursos y talleres.</p> <p>1.2 Para abril 2025 los docentes utilizarán nuevas estrategias adquiridas para el proceso enseñanza - aprendizaje.</p> <p>1.3. Para fines de octubre 2024 los directivos tendrán propuestas para la mejora de la calidad del proceso de evaluación de resultados de aprendizaje.</p>	<p>1.1. Convocatorias - Registro - Asistencia a talleres 1.2. Actas - Compromiso. 1.3. Resoluciones.</p>	<p>1.1. Participación activa de los estudiantes.</p> <p>1.2. Aceptación favorable de los docentes para utilizar nuevas estrategias en el proceso enseñanza - aprendizaje.</p> <p>1.3. Plan aprobado.</p>
<p>Actividades</p> <p>1. Organizar una comisión para gestión de talleres y cursos.</p> <p>2. Elaborar un cronograma de capacitaciones.</p> <p>3. Elaboración de pruebas.</p> <p>4. Asignación de trabajo de informe.</p>		<p>Convocatoria - Informes - Asistencia - Documento de evaluación.</p>	<p>Plan en ejecución.</p>



7. Estrategia de sostenibilidad

La propuesta será posible si se mantienen ciertas directrices que le den sostenibilidad a las actividades planificadas.

- Socialización de la propuesta a directivos, docentes y estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico de tal manera se asegure la aceptación, asignación logística y recursos para implementar la propuesta.
- Aprobación de la propuesta para garantizar el proceso formativo, valorativo en relación a los resultados de aprendizaje.

8. Contenido de la propuesta

La Carrera de Laboratorio Clínico de la Facultad de Ciencias de la Salud con sede en la matriz ULEAM, Manta – Manabí aprobada mediante resolución del CACES para su funcionamiento en la constitución política del Ecuador en sus artículos 350 – 355 – 26 – 27 y 28. En la ley orgánica de Educación artículo 18 – 84 – 132 y demás. Entonces la propuesta de evaluación de resultados de aprendizaje previo a las practicas preprofesionales que están articuladas a la aplicación de conocimiento y al desarrollo de destrezas y habilidades específicas que un estudiante debe adquirir para un adecuado desempeño en su futura profesión, tal como lo manifiesta el proyecto de creación de la Carrera en su modelo de practicas señala que la formación del Licenciado en Laboratorio Clínico requiere un manejo cognitivo – procedimental – valorativo para el análisis e interpretación de los especímenes biológicos y no biológicos que ameritan un secuenciamiento de las actividades prácticas, de manera que se permitan adquirir las destrezas necesarias para enfrentarse a la praxis profesional.

Las cuatro primeras Prácticas Integrales del Laboratorio permiten simular situaciones reales, en ellas se planifican actividades en cada una de las áreas del quehacer del laboratorio clínico, lo cual sienta las bases para la quinta y última Práctica Integral de Laboratorio que es un encuentro con el escenario profesional. Los estudiantes que realizarán sus prácticas preprofesionales o laborales lo harán desde el enfoque de cátedras que orientan la práctica laboral; como se encuentra en la malla curricular en 9no semestre; Práctica Integral de Laboratorio V, en los escenarios de aprendizaje, modalidades y alianzas estratégicas con hospitales, clínicas del sistema público de salud debidamente regulados por Agencia de Aseguramiento de calidad de los servicios de salud y medicina prepagada (CACES). Los principales escenarios de esta práctica laboral son los servicios del Ministerio de Salud Pública y el Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social, las plazas no cubiertas se distribuirán entre otros campos afines con los que se cuenten convenios.



Asignaturas articuladas	Escenarios de aprendizaje	Actividades a realizar	Capacidades, competencias, habilidades, destrezas y desempeño del perfil de egreso	Duración	Número de estudiantes por tutor
Práctica Integral de Laboratorio V	Hospitales y clínicas del sistema de salud debidamente reguladas por la Agencia de Aseguramiento de Calidad de los Servicios de Salud y Medicina Prepagada (ACCES); servicios de salud del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social.	<ol style="list-style-type: none"> Inducción a las prácticas laborales. Manejo de instrumental y equipo con los cuales cuente la institución en cada área y sección. Manejo de los protocolos de bioseguridad según espécimen. Respeto y colaboración con los integrantes del equipo de salud. Actuación de acuerdo con los principios del sistema de gestión de calidad. Rotación por diferentes áreas y secciones de la institución donde realiza la práctica laboral. Toma de muestra, análisis e interpretación de los resultados de laboratorio y su correlación con el diagnóstico presuntivo. Participación en estudios de casos de pacientes realizando la correlación clínica de los resultados generados con el diagnóstico presuntivo emitido por el médico. 	<ul style="list-style-type: none"> Ejecuta técnicas básicas para la toma de muestras, traslado, procesamiento y preservación observando normas de bioseguridad y calidad. Brinda los primeros auxilios al usuario y al equipo de trabajo del laboratorio clínico cuando las situaciones lo requiera aplicando las normas de bioseguridad y garantizando el auxilio inmediato. Aplica las técnicas y procedimientos acorde con los avances tecnológicos y las necesidades del usuario, demostrando calidad y calidez. Desarrolla procedimientos y técnicas cuantitativas en los diversos análisis de hematología y hemostasis utilizando los equipos y reactivos necesarios aplicando técnicas manuales y automatizadas. Recrea protocolos en los servicios de laboratorio para medir la concentración de analitos presentes en líquidos y fluidos biológicos humanos con el propósito de contribuir al diagnóstico médico, dentro del equipo de salud. Diferencia técnicas y procedimientos para la identificación de bacterias, hongos, virus y parásitos en diferentes especímenes valorando los resultados bajo estándares de calidad aplicados en análisis microbiológicos. Realiza el antibiograma para detectar mecanismos de resistencia bacteriana observando criterios de calidad. Construye técnicas de manipulación y análisis de material genético, inmunológico y viral comparando sus resultados con las bases de datos para la resolución de problemas específicos que puedan surgir en un laboratorio de biología molecular, desarrollando el pensamiento autocrítico y respetando la diversidad de criterios. Recrea protocolos serológicos y moleculares para apoyar 	480 Horas	1 - 4



		<p>el diagnóstico médico de enfermedades catastróficas.</p> <ul style="list-style-type: none">- Implementa acciones de control de calidad en la validación de resultados garantizando seguridad en los reportes y actuando con ética y responsabilidad.- Valida reportes de laboratorio como herramienta para el apoyo al diagnóstico, control y monitoreo del paciente realizado por el médico, como integrante del equipo multidisciplinario de salud demostrando habilidades de comunicación.- Implementa el sistema de gestión de calidad en el laboratorio clínico atendiendo a los requisitos de las normas de calidad.- Discrimina las técnicas de laboratorio aplicadas en las ciencias forenses emitiendo reportes confiables que aportan a las diligencias de investigación actuando con bioética y responsabilidad.- Desarrolla su trabajo en laboratorio respetando los lineamientos para cada fase: preanalítica, analítica y postanalítica.- Realiza análisis crítico y reflexivo de la actividad práctica profesional realizada llegando a conclusiones y síntesis de los aspectos claves, así como el reconocimiento de las relaciones más significativas y afianzamiento de los conocimientos teóricos, prácticos y técnicos.	
--	--	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--



Por todo lo expuesto sugerimos que el plan de evaluación previo a prácticas preprofesionales para los estudiantes de 8vo o próximos a entrar en el proceso de prácticas laborales sea acogido en su totalidad porque el impacto educativo de esta propuesta evidenciará los resultados de aprendizaje y el mejoramiento del estudiante que realizará sus prácticas preprofesionales de manera propositiva en su formación frente a los problemas de salud individual y colectiva.

9. Estrategias – Actividades

FASE PRE-ANALÍTICA

El propósito de los resultados de las pruebas de laboratorio es reducir las dudas surgidas en el raciocinio médico interpretadas en la historia clínica y examen físico, para cumplir con el propósito es necesario que todas las fases de asistencia al paciente se lleven a cabo conforme a los más elevados principios de corrección técnica, considerando la importancia de los factores modificable como no modificables que afectan directamente al resultado final de la prueba.

Es común la afirmación de que la fase preanalítica es la responsable de cerca del 70% del total de los errores cometidos en los laboratorios clínicos que cuentan con un sistema de control de la calidad bien establecido. Adicionalmente, algunas características de esta fase aumentan, con mucho, el grado de complejidad y, por consiguiente, la oportunidad de aparición de errores y no de coincidencias.

Los fallos son innumerables, considerando los más evidentes:

- Muestra insuficiente.
- Muestra incorrecta.
- Muestra inadecuada.
- Identificación incorrecta.
- Problemas de acondicionamiento y transporte de la muestra.

Dentro de la fase preanalítica se incluye: la indicación de la prueba, la redacción de la solicitud, la transmisión de eventuales instrucciones de preparación del paciente, la evaluación de la atención a las condiciones previas, procedimientos de extracción, acondicionamiento, conservación y transporte de la muestra biológica hasta el momento de la realización efectiva de la prueba.



De esta manera en la fase preanalítica se da la participación de un conjunto de personal de salud que parte desde el médico, enfermeros, auxiliares y laboratoristas, surgiendo la importancia de que el personal que extrae la muestra deberá cumplir con los requisitos técnicos de la recogida y los riesgos biológicos potencialmente con el posterior acondicionamiento, conservación y transporte de la muestra.

Considerando hora y fecha de recogida de la muestra como también el uso de algún medicamento por parte del paciente, asegurando un resultado de calidad.

✚ Principales causas que alteran el resultado del laboratorio

→ **Fluctuación cronobiológica:**

Definida como aquellas alteraciones clínicas en la concentración de un determinado parámetro en función del tiempo. El concepto de los ciclos circadianos se debe considerar, por ejemplo, en las concentraciones de hierro y de cortisol en el suero. Las recogidas realizadas por la tarde proporcionan resultados hasta un 50% más bajos que los obtenidos en las muestras recogidas por la mañana. Las alteraciones hormonales típicas del ciclo menstruales, la hemoconcentración son los predominantes en estas variaciones.

→ **Sexo:**

Existe diferenciación en la predisposición hormonal de cada sexo, así como en los diferentes analitos esto se debe al aumento de masa muscular compuesta por variación en las rutas metabólicas incluyendo otros factores

→ **Edad:**

La concentración sérica bioquímica tiene variación dependiendo la edad en la cual se puede mencionar a diversos factores, como la madurez funcional de los órganos y sistemas, contenido hídrico y masa corporal.

→ **Posición:**

Un cambio brusco de posición puede alterar algunos componentes séricos. Cuando el individuo pasa de la posición supina a la posición erecta, por ejemplo, tiene lugar un flujo de agua y sustancias filtrables del espacio intravascular al intersticial. Citando otro ejemplo la importancia de exámenes hormonales en especial la prolactina en la cual paciente previo a las indicaciones como no haber tenido relaciones sexuales, no haberse realizado masajes a nivel de mama, y reposar 15 minutos antes de la toma de muestra.



→ **Actividad física:**

El esfuerzo físico puede ocasionar el aumento de la actividad sérica de algunas enzimas, como la creatina quinasa, la aldolasa y el aspartato aminotransferasa, por el aumento de la liberación celular. Ese aumento puede persistir de entre 12 y 24 horas después de la realización de ejercicio.

→ **Ayuno:**

Generalmente los estados postprandiales, están acompañados de turbiedad del suero, que puede interferir en algunas metodologías. Período de ayuno habitual para la extracción rutinaria de sangre es de 8 horas. Hay que manifestar que en ayunos prolongados excediendo las 12 horas es prejudicial influyendo directamente a los resultados.

→ **Utilización de drogas de abuso:**

Los efectos fisiológicos, deben citarse la inducción y la inhibición enzimáticas, la competencia metabólica y la acción farmacológica persistiendo la unión a proteínas y reacciones cruzadas,

El abuso del alcohol y tabaco provoca esporádicamente la interferencia en análisis como glucosa, de ácido láctico y de los triglicéridos.

 **Toma de muestras**

Las recomendaciones estipuladas por Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

→ **Factores predisponentes de la muestra:**

Los factores inmodificables son conocidos como no controlables, por lo tanto, no podemos actuar sobre ellos (sexo, edad, raza, embarazo, etc.), la correcta identificación de estos puede ayudarnos a evitar interpretaciones erróneas.

Entre factores modificables están la determinación de ciertas magnitudes requiere una preparación previa que es necesario ser cumplida por el paciente (dieta, medicación, ayuno, selección de día del ciclo menstrual, etc.)

→ **Preparación del paciente:**

Como ya se ha venido describiendo el paciente debe cumplir con lo estipulado incluso la asepsia de genitales con jabón neutro en el caso de la recolección de chorro de micción media para muestra de orina. La variable muy importante para tomar en cuenta, la dieta, y la ingesta de líquidos pueden tener influencia en varias magnitudes bioquímicas y



hematológicas; por otra parte, la desnutrición y el ayuno prolongado también pueden alterar algunas magnitudes de manera clínicamente relevante.

→ **Postura:**

Es un papel crucial para evitar alteraciones previas a la toma de muestra que van desde el paciente se encuentre incómodo, junto con que sienta ansiedad, puede conducir a la liberación indebida de algunos analitos en la corriente sanguínea.

- **Pacientes encamados:** El paciente debe descansar decúbito supino. Si se necesita un apoyo adicional, puede colocarse una almohada bajo el brazo del que se va a extraer la muestra. El paciente debe extender su brazo, de manera que forme una línea recta desde el hombro a la muñeca.
- **Pacientes ambulatorios:** El paciente debe sentarse confortablemente en una silla, con el antebrazo colocado en un apoyabrazos inclinado y el brazo extendido, de manera que forme una línea recta desde el hombro a la muñeca. El brazo debe apoyarse firmemente en el apoyabrazos y no debe estar doblado a nivel del codo.

✚ **Materiales para la obtención de la muestra**

→ **Tubos**

El orden correcto de extracción por vacío, para los tubos de sangre recomendado por las directrices de CLSI es el siguiente:

1. Frascos de hemocultivos; primero el aeróbico y después el anaeróbico.
2. Tubo de coagulación de citrato.
3. Tubo sin activador de coágulo.
4. Tubo con gel separador y activador del coágulo.
5. Tubo de heparina con o sin gel separador de plasma.
6. Tubo con EDTA.

• **Tubo sin aditivos:**

Utilizados para la obtención de suero en pruebas de bioquímica, serología, inmunología, algunos tubos contienen gel separador con partículas de sílice que facilita la separación de suero y coágulo tras la centrifugación. Con ella se obtiene el suero, tras dejar reposar la sangre recién extraída al menos 10 minutos a temperatura ambiente para que se forme el coágulo y centrifugar. Se utilizan varios tamaños, como el grande de 10 ml y microtubos de 0,8 ml.



- **Tubo con EDTA:**

Contiene como anticoagulante el EDTA K3 (sal tripotásica del ácido etilén-diaminotetraacético). Es el tubo utilizado para la biometría hemática (hemogramas), banco de Sangre, grupo sanguíneo y otras pruebas. Con ella se obtiene sangre total anticoagulada. Se manejan los pequeños de 4 ml para realización de carga viral.

- **Tubo Citrato:**

Contienen como anticoagulante citrato trisódico. El citrato viene en una cantidad prefijada para mezclarse con un volumen fijo de sangre; la exacta proporción de sangre y anticoagulante es crucial en la realización de las pruebas de coagulación, ya que, si no es la adecuada, los resultados se alteran.

	Citrato de sodio	Coagulación (Tiempos de coagulación fibrinógeno, y agregación plaquetaria)	3 a 4 veces
	Gel separador	Química clínica	5 veces
	Sin anticoagulante, con activador de coagulación, con silicón	Química clínica, banco de sangre serología	8 a 10 veces
	Gel separador y trombina	Obtención de suero rápido	5 a 6 veces
	Gel separador y heparina de litio	Química clínica en plasma	5 veces
	Heparina de sodio/litio	Química clínica (urgencias) hematología (fragilidad osmótica)	8 a 10 veces
	EDTA _{K2}	Hematología, banco de sangre	8 a 10 veces
	Gel separador y EDTA _{K2}	Determinaciones de carga viral	8 a 10 veces
	Oxalato de Potasio/NaF	Química clínica, pruebas de lactato y glucosa	8 veces

Consideraciones de la toma de sangre venosa

Técnica más utilizada en el laboratorio para obtener muestra de sangre, esta se puede realizar de una manera accesible en la mayoría de los pacientes ambulatorios, de consulta externa y en algunos pacientes hospitalizados.

Uso obligatorio de EPP, el uso de guantes debe ser cambiado en cada toma de muestra.



Los pasos comunes para seguir en el momento de la extracción:

→ **Identificar al paciente. Higienizar las manos:**

Verificación de nombres del paciente preguntándole o en pacientes hospitalizados mediante la visualización de muñequera con nombres completos.

Si el paciente está dormido, se le debe despertar para la toma. Estar atento a movimientos involuntarios en pacientes inconscientes o semi comatosos. Se recomienda alguna contención para la toma.

Compruebe el estado de ayuno, las restricciones alimentarias, la hipersensibilidad al látex o al antiséptico.

→ **Preparación del equipo de extracción:**

Examinar tubos y agujas para detectar posibles defectos al verificar la fecha de vencimiento.

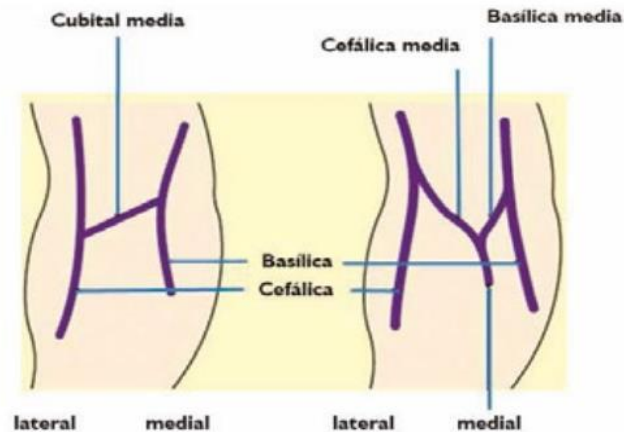
- Seleccionar el calibre de la aguja para la recolección, de acuerdo con la necesidad.
- Seleccionar el sistema de toma. Tubos de vacío o jeringa.
- Los sistemas de vacío son preferibles ya que ahorran la transferencia de la sangre a los tubos y garantizan la proporción de aditivo/muestra.

→ **Preparación del paciente:**

Coloque al paciente de manera que pueda extender el brazo elegido hacia abajo. Solicite que apoye el brazo en el reposabrazos evitando que lo doble a nivel del codo, formando así una línea recta entre el hombro y la muñeca. A la hora de seleccionar el sitio de punción, las venas son más prominentes si el paciente cierra el puño. Por el contrario, no debe pedirse al paciente que lo abra y cierre (bombeo) ya que esto puede causar variaciones en la concentración de algunos analitos.

Aplicar el torniquete, hay que pedir que el paciente que cierre la mano y examinar el lugar de la toma para seleccionar el sitio para la punción.

- La aplicación del torniquete no debe exceder 1 minuto, por causa del riesgo de causar estasis vascular.
- Debe evitarse la toma en el mismo brazo donde haya un acceso venoso por el cual se esté infundiendo suero o medicamentos.
- El lugar más adecuado para la punción es la fosa ante cubital, donde los vasos son más superficiales y tienen el calibre adecuado. Cuando este sitio no sea accesible, es aceptable usar las venas ubicadas en la parte posterior de las manos.



Aplicar el antiséptico en el lugar de la punción y esperar que se seque.

Usar, preferiblemente, una compresa de gasa empapada en alcohol al 70 % o compresas industrializadas. Usar movimientos circulares desde el centro hacia afuera.

Realizar la punción.

Sostener el brazo firmemente por debajo de la ubicación elegida para la punción. El pulgar se puede usar para tirar de la piel, fijando la vena elegida.

Comunicar al paciente que está listo para realizar la punción. Estar atento a cualquier movimiento involuntario y/o pérdida de conciencia.

Con el bisel hacia arriba, puncionar la vena en un ángulo de 30° entre la aguja y el antebrazo del paciente.

La recomendación técnica indica que el torniquete sea retirado tan pronto como la sangre comience a fluir hacia el tubo. Sin embargo, en algunas situaciones, este procedimiento puede interrumpir el flujo sanguíneo.

Los tubos que contienen aditivos deben homogeneizarse inmediatamente después de la recolección. Invierta el tubo suavemente de 5 a 10 veces, asegurándose de realizar movimientos suaves para evitar la hemólisis.

Remover la aguja y proceder al descarte. Presionar el sitio de punción hasta que el sangrado haya cesado, colocar un vendaje adhesivo.

El propio paciente puede mantener la gasa en el lugar hasta que el flebotomista verifique que el sangrado ha cesado. Observar necesidades especiales de manejo. Envío del material, correctamente identificado, para el procesamiento.



→ **Evaluación de Laboratorio – Protocolos por áreas**

ÁREA DE HEMATOLOGÍA

El examen hematológico es la forma más común de estudiar la sangre, a través del recuento y análisis de sus componentes (glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas) y se realiza extrayendo una pequeña cantidad de sangre.

La biometría Hemática también denominada Hemograma, es uno de los estudios de rutina de mayor importancia, ya que la información que de aquí se deriva nos proporciona una idea muy confiable del estado general de la salud del paciente, consta de 2 bloques:

- **Formula Roja:** Determina los parámetros relacionados con el eritrocito.
- **Formula Blanca:** Determina los parámetros relacionados con los leucocitos.

→ **Anticoagulantes**

La sangre es una suspensión de eritrocitos, leucocitos y plaquetas en un líquido de compleja composición, llamado, plasma. Al impedirse el mecanismo de coagulación sanguínea pueden separarse los elementos formes de este líquido, el cual tiene un color paja claro. Cuando la sangre se coagula se obtiene otro líquido al separar el coágulo formado, a este líquido se le llama suero, el cual es de composición diferente al plasma.

La diferencia entre estos dos líquidos obtenidos de la sangre radica en su composición, pues al inhibir la coagulación de la sangre se conserva el fibrinógeno en el plasma, mientras que el suero carece del mismo por su transformación a filamentos insolubles de fibrina por la activación de proteínas coagulantes durante la hemostasia.

Debido a que la sangre fuera del sistema vascular coagula entre 3 y 7 minutos es necesario el uso de sustancias, tales como los anticoagulantes que permitan que los elementos formes de la sangre, permanezcan en suspensión para su estudio. Los anticoagulantes se utilizan para obtener plasma o muestras de sangre total y así poder realizar los recuentos celulares y estudiar las características morfológicas de las células. Así mismo deben procurar que las células sanguíneas a estudiar se encuentren en el estado más parecido al fisiológico, como cuando se encuentran circulando por el torrente sanguíneo. Para ello los anticoagulantes no deben alterar la morfología de los leucocitos, el tamaño eritrocitario, no producir hemólisis e impedir la agregación plaquetaria, posibilitando al mismo tiempo el máximo periodo de conservación de la muestra (cerca de 24 horas a 25°C o incluso 48 horas refrigerada a 4° C).



Los anticoagulantes como aditivos para la sangre más ampliamente utilizados son:

1. EDTA (C₁₀H₁₆N₂O₈)

Sal disódica, dipotásica o tripotásica del ácido etilendiaminotetraacético, actuando mediante un efecto quelante sobre el calcio (Ca⁺⁺), impidiendo el proceso de la coagulación al fijarlo. Este anticoagulante se utiliza fundamentalmente para la realización de recuentos celulares, sobre todo en los autoanalizadores y permite además la realización del hematocrito y del frotis sanguíneo hasta dos horas después de la extracción de la muestra.

2. Heparina

Es un anticoagulante fisiológico que actúa impidiendo que la protrombina se transforme en trombina. Los frotis realizados con muestras sanguíneas anticoaguladas con heparina producen un color azulado en el fondo del frotis, por lo tanto, no se recomienda para tal fin. La proporción adecuada es de 15-20 UI (0,1-0,2 mg) de heparina por mL de sangre.

3. Citrato trisódico (C₆H₅O₇Na₃)

Actúa impidiendo que el calcio se ionice, evitando así la coagulación. Se utiliza para realizar las pruebas de Hemostasia en una proporción sangre: anticoagulante 9:1.

✚ Procedimientos básicos en el laboratorio de hematología

→ **Toma de Muestra**

- Usar tubos con EDTA (tapón morado) para pruebas rutinarias.
- Mantener proporción correcta sangre/anticoagulante.
- Mezclar por inversión 8-10 veces.
- Procesar dentro de las 2 primeras horas.

→ **Equipo Básico Necesario**

- Contador hematológico automatizado.
- Microscopio binocular.
- Centrífuga.
- Portaobjetos y cubreobjetos.
- Pipetas automáticas.
- Colorantes (Wright, Giemsa).

1. Biometría Hemática Completa (BHC)

- ✓ **Fundamento:** Análisis cuantitativo y cualitativo de los elementos formes de la sangre.



✓ **Parámetros y Valores de Referencia:**

• **Serie Roja:**

❖ **Eritrocitos:**

- **Hombres:** 4.5-5.5 millones/ μ L

- **Mujeres:** 4.0-5.0 millones/ μ L

❖ **Hemoglobina:**

- **Hombres:** 13.5-17.5 g/dL

- **Mujeres:** 12.0-16.0 g/dL

❖ **Hematocrito:**

- **Hombres:** 40-54%

- **Mujeres:** 36-48%

❖ **Índices Eritrocitarios:**

- **VCM:** 80-100 fL

- **HCM:** 27-32 pg

- **CMHC:** 32-36 g/dL

• **Serie Blanca:**

❖ **Leucocitos totales:** 4,500-11,000/ μ L

❖ **Diferencial:**

- **Neutrófilos:** 40-75%

- **Linfocitos:** 20-45%

- **Monocitos:** 2-10%

- **Eosinófilos:** 1-6%

- **Basófilos:** 0-1%

• **Plaquetas:**

- 150,000-450,000/ μ L

2. Frotis de Sangre Periférica y Cuenta Diferencial

La morfología de las células sanguíneas es el complemento de la biometría hemática. Sólo a través del examen cuidadoso de un frotis sanguíneo se pueden obtener indicios adicionales de la naturaleza de la anemia, leucemia, etc., como cambios en la forma y características de tinción de los eritrocitos y leucocitos, y aparición de células inmaduras o anormales.

El recuento diferencial puede definirse como estudio cualitativo de los eritrocitos, plaquetas y leucocitos de cada tipo: polimorfonucleares, linfocitos y monocitos, junto a un estudio de la edad y anomalías morfológicas de los mismos. Otra definición para el



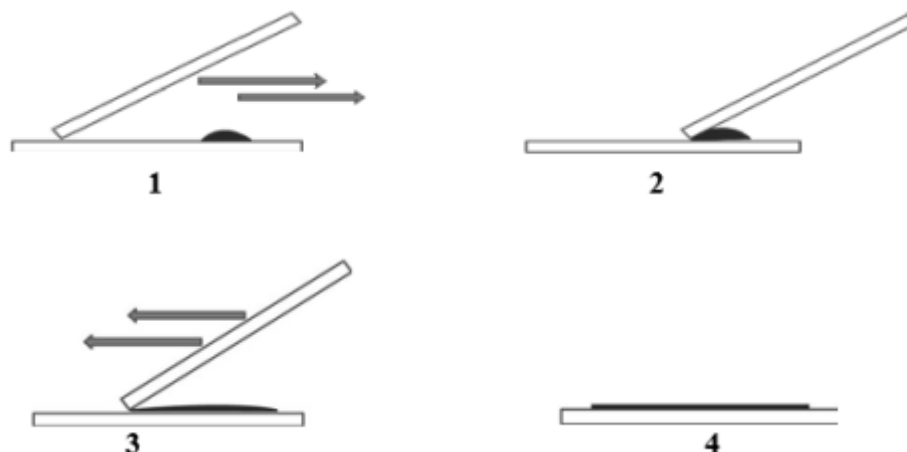
concepto de diferencial es que representa el porcentaje de distribución de los diferentes tipos de leucocitos y el estudio cualitativo de los mismos sobre una extensión teñida.

- ✓ **Fundamento:** Evaluación morfológica de células sanguíneas mediante microscopía.
- ✓ **Procedimiento:**
 - Recolectar 2 mL de sangre venosa con anticoagulante en un tubo con tapón lila.
 - Homogeneizar perfectamente bien la sangre por inversión del tubo (5-10 veces).
 - Depositar una pequeña gota de sangre procedente de una punción cutánea de una jeringa o del tubo colector, aproximadamente a un cuarto de distancia de uno de los extremos del portaobjetos.

Gota de sangre



- Para extender la sangre se utiliza el borde fino de otro portaobjetos o bien se emplean portaobjetos especiales. El portaobjetos que extiende la sangre debe mantenerse en un ángulo de 30-40° con respecto al portaobjetos horizontal. El borde del portaobjetos que efectúa la extensión se desplaza hacia la gota de sangre hasta que entre en contacto con la misma.
- La gota de sangre se extiende rápidamente por capilaridad a lo largo del borde del portaobjetos extensor. Desplazando éste lentamente en dirección contraria, se realiza una fina extensión porque la sangre sigue por detrás del borde del portaobjetos extensor.





Las variaciones del grosor de la extensión se consiguen cambiando el tamaño de la gota de sangre, el ángulo del portaobjetos extensor y la velocidad de la extensión.

Cuando el frotis se realiza por este procedimiento debe tener entre 3 y 4 cm y presenta tres zonas diferenciadas, en las que la morfología eritrocitaria puede variar y la distribución de leucocitos es diferente.

→ **Esquema de un frotis sanguíneo con indicación de las diferentes áreas que la componen y la distribución celular de la misma.**

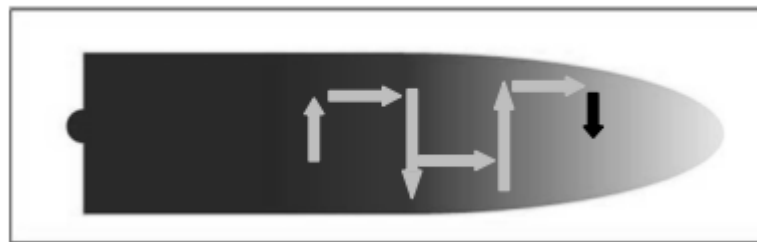


- Después de que el frotis está seco, se escribe el nombre del paciente y la fecha en la parte más gruesa de la extensión.
- Se coloca el frotis sanguíneo seco en una rejilla o en un puente de tinción.
- En caso de que el colorante no tenga un fijador, el frotis debe cubrirse totalmente con alcohol etílico o metílico absoluto durante 1 ó 2 minutos, para fijar la muestra.
- El portaobjetos seco se cubre totalmente con el colorante de Wright y se deja un minuto.
- Sobre la extensión se vierte una cantidad igual de solución amortiguadora (pH 6.8 ó 7.2). Hay que procurar que la mezcla del colorante y amortiguador no se derrame.
- Después de que la mezcla del colorante y el amortiguador ha actuado durante 3 a 6 minutos (es preciso probar el tiempo ideal para cada lote de colorante) se elimina de la superficie del portaobjetos, colocando éste horizontalmente bajo un chorro fino de agua destilada. Con esto se evita que la preparación se deteriore por el precipitado.
- A continuación, se lava el portaobjetos con agua corriente (o solución salina fisiológica) durante un breve periodo de tiempo, si se aprecia un exceso de coloración azulada, se efectúa un lavado posterior. Procurar que el lavado no sea muy extenso para no decolorar la preparación y evitar que los gránulos de los basófilos se disuelvan.



- Dejar que se seque al aire, manteniéndola inclinada o verticalmente sobre un papel absorbente o una gasa.
- Eliminar el exceso de colorante que existe en el otro lado del portaobjetos, frotando con una gasa empapada en alcohol.
- Colocar el portaobjetos en la platina del microscopio y se hace la observación con lente de inmersión en aceite directamente.
- Al efectuar el recuento, se sigue el método cruzado.

→ **Patrón a seguir para realizar la cuenta diferencial en un frotis**



El término “cuenta diferencial” se refiere a la distribución porcentual de los distintos tipos de leucocitos. El procedimiento usual consiste en contar 100 leucocitos, clasificándolos como leucocitos PMN neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos y linfocitos. Los leucocitos jóvenes o inmaduros se deberán contar con todo cuidado.

→ **Valores de referencia**

Tipo de leucocito	%	Valores Absolutos
Neutrófilos	40 - 85	1 500 - 7 000
Bandas	0 - 11	0 - 800
Linfocitos	12 - 46	1 000 - 4 200
Monocitos	1 - 13	100 - 800
Eosinófilos	0 - 7	0 - 200
Basófilos	0 - 3	0 - 20

Pruebas Especializadas

1. Velocidad de Sedimentación Globular (VSG)

La VSG es una prueba sencilla, barata e inespecífica empleada desde hace muchos años para contribuir al diagnóstico de enfermedades inflamatorias, incluyendo infecciones, cáncer y enfermedades autoinmunes.



La VSG es una prueba inespecífica porque sus aumentos indican un probable proceso inflamatorio, degenerativo o necrobiótico, pero no el sitio donde se está desarrollando y mucho menos la causa, además de que otras causas diferentes a la inflamación pueden llevar a un aumento de la VSG. Es por ello por lo que esta prueba no se puede emplear aisladamente.

La VSG constituye una medida indirecta del grado de inflamación presente en el organismo. Mide la velocidad de caída (sedimentación) de los eritrocitos en el plasma, por lo cual esta velocidad depende de tres factores principalmente:

1. La composición proteínica del plasma (alteración en la concentración de las proteínas plasmáticas, así como el aumento de fibrinógeno o alteración en la proporción entre las distintas fracciones proteicas).
2. El tamaño, forma y carga de los eritrocitos.
3. La concentración de los eritrocitos.

Los resultados se expresan como milímetros de plasma transparente que quedan en la parte superior de la columna después de que haya transcurrido una hora. Normalmente, los glóbulos rojos van cayendo lentamente, dejando poca cantidad de plasma transparente. El hecho de que exista una concentración elevada de ciertas proteínas (como el fibrinógeno o las inmunoglobulinas) provoca que los eritrocitos caigan más precipitadamente.

El valor de la VSG se usa para demostrar la presencia de inflamación o destrucción tisular, o ambas afecciones. Es una prueba “no específica” que indica destrucción de tejido, pero no identifica la causa (o sea el trastorno patológico responsable).

- ✓ **Fundamento:** Medición de la velocidad de sedimentación de los eritrocitos en una hora.
- ✓ **Valores de referencia:**
 - **Hombres:** 0–15 mm/h, o 0–20 mm/h para hombres mayores de 50 años.
 - **Mujeres:** 0–20 mm/h, o 0–30 mm/h para mujeres mayores de 50 años.
 - **Niños:** 0–10 mm/h.
 - **Recién nacidos:** 0–2 mm/h.

2. Reticulocitos

El reticulocito es un eritrocito inmaduro que contiene RNA ribosomal. Su nombre deriva del aspecto reticulado que muestra en las coloraciones supravitales debido a la persistencia en el citoplasma de restos de organelos. Son células de volumen algo mayor que los eritrocitos maduros, presentes en sangre periférica en una proporción entre 0,5 y



1,5 % de los eritrocitos y constituyen un excelente indicador de la capacidad regenerativa de la médula ósea eritroide, de forma que en las anemias arregenerativas son escasos o nulos, y en las regenerativas son abundantes.

✓ **Fundamento:** Determina el porcentaje de eritrocitos inmaduros circulantes.

Cuando se tiñen con azul de cresil brillante, azul de metileno u otros colorantes supravitales que penetran en la célula viva antes de la fijación, se precipita el ácido ribonucleico y aparece como una red azul que da el nombre de reticulocito a la célula.

El material basófilo de los eritrocitos jóvenes toma el colorante supravital y adquiere el aspecto de retículo azulado. En los reticulocitos jóvenes aparecen múltiples granos y líneas; en los reticulocitos viejos solamente hay algunos gránulos azulados.

✓ **Procedimiento:**

- Recolectar sangre venosa en un tubo con EDTA.
- Homogeneizar perfectamente bien la sangre con el anticoagulante por inversión del tubo (mínimo 10 veces).
- En un tubo colocar 2 ó 3 gotas de colorante, añadir de 6 a 8 gotas de sangre anticoagulada. Si se emplea sangre capilar, es aconsejable aumentar la cantidad de colorante para evitar la coagulación. Mezclar perfectamente.
- Se incuba a 37°C durante 10 a 20 minutos. No se debe sobrepasar de este tiempo.
- Mezclar bien la suspensión. Se preparan dos frotis en la forma habitual ya descrita, quizá un poco más delgada. No se aconseja una contratinción con Romanowsky.
- Colocar el portaobjetos en la platina del microscopio. Se hace la observación con el objetivo de 100X.
- Se escoge una zona del frotis en donde no haya superposición de eritrocitos.

Nota: Los reticulocitos se observan como eritrocitos con material granulofilamentoso de color azul oscuro y los eritrocitos maduros se observan de color azul verdoso.

- Como base del cálculo, por lo menos deben examinarse 1000 eritrocitos. Estos deben examinarse en varias partes de la extensión. Contar el número de reticulocitos que se encuentran en 1000 eritrocitos.
- Informar el % de reticulocitos de acuerdo con el cálculo siguiente:

$$\% \text{ de Reticulocitos} = \frac{\text{No. de reticulocitos contados}}{\text{No. total de eritrocitos}} \times 100$$

✓ **Valores de Referencia:** 0.5-2.5%



ÁREA DE HEMOSTASIA - COAGULACIÓN

La hemostasia es un conjunto de procesos bioquímicos independientes que al interactuar entre sí mantienen la integridad de los vasos sanguíneos para prevenir o detener una hemorragia y así conservar la fluidez de la sangre circulante.

Una de las clasificaciones más utilizadas es dividirla en los que se llama hemostasia primaria o fase vascular, hemostasia secundaria o plasmática de la coagulación y fibrinólisis.

Para que la hemostasia se lleve a cabo después de una lesión, es necesario que intervengan cuatro factores:

- 1) Endotelio vascular.
- 2) Plaquetas.
- 3) Proteínas plasmáticas (Factores e inhibidores de la coagulación).
- 4) Sistema fibrinolítico.

Recomendaciones generales para el laboratorio de coagulación

Los buenos resultados en las pruebas de coagulación dependen en su totalidad de la calidad de la muestra, por lo cual es indispensable minimizar el traumatismo durante la flebotomía para prevenir la hemólisis. La sustitución de tubos de vidrio por tubos de plástico disminuye la activación de los factores XII y VII al entrar en contacto con la superficie del tubo.

El anticoagulante de elección para casi todas las pruebas de coagulación es el citrato de sodio a una concentración de 3.2% y una proporción de un volumen de anticoagulante por 9 volúmenes de sangre, pues presenta ventajas sobre los demás anticoagulantes, por tener una osmolalidad más cercana a la del plasma y porque esta concentración se emplea como promedio del intervalo normal en el cálculo del Índice Normalizado Internacional.

Una vez que la sangre entra en contacto con el tubo ocurren cambios bioquímicos con los cuales el factor VIII comienza a degradarse con rapidez, por lo cual el NCCLS recomienda que el tiempo para determinar el tiempo de protrombina (TP) no exceda las 24 horas y que para determinar el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) el tiempo no sea mayor a las 4 horas.



✚ Procedimientos básicos en el laboratorio de hemostasia – coagulación

1. Tiempo de sangrado

Es una prueba sencilla que permite evaluar la hemostasia primaria <<in vivo>>. Consiste en medir el tiempo transcurrido desde la realización de una pequeña incisión cutánea hasta que cesa la hemorragia.

- ✓ **Fundamento:** Esta prueba mide la habilidad de los pequeños vasos para responder a una lesión, lo que depende de la integridad de la pared vascular, de su capacidad constrictora y del número y calidad de las plaquetas que formarán el tapón hemostático.
- ✓ **Procedimiento:**
 - Se limpia el lóbulo de la oreja con isopropanol al 70%, sin presionar ni masajear vigorosamente.
 - Dejar secar perfectamente la región limpia.
 - Se hace una punción en el área adecuada en el lóbulo de la oreja, a una profundidad de unos 3 mm con una lanceta estéril adecuada.
 - Tan pronto como se realiza la punción y se observa que empieza a fluir la sangre, se pone en marcha el cronómetro.
 - La sangre debe salir libremente y el lóbulo no se debe de comprimir.
 - Absorber la gota de sangre con un trozo de papel filtro cada 15 segundos, procurando de no tocar la superficie del lóbulo de la oreja o de manipular la lesión.
 - El cronómetro se detiene hasta que el papel filtro ya no se manche con la sangre o que no sangre más.
- ✓ **Valores de referencia:** 1 a 3 min.

2. Tiempo de Coagulación de Sangre Total

El tiempo de la coagulación sanguínea es una prueba muy poco sensible y nunca se debe utilizar como prueba selectiva. Se usa a menudo para guiar la terapéutica con heparina, pero los resultados obtenidos son a menudo inseguros, por esto son preferibles pruebas como el tiempo de tromboplastina parcial activada. A pesar de ello, el tiempo de coagulación sanguínea se realiza en la mayoría de los laboratorios a causa de que se pueden obtener muchos datos de la inspección periódica del coágulo.

- ✓ **Fundamento:** El tiempo necesario para que la sangre se coagule en un tubo de cristal es la medida de la actividad total del sistema intrínseco de la coagulación. La inspección periódica del coágulo permite la valoración de las propiedades físicas del mismo (tamaño, aspecto y fuerza mecánica), su estabilidad, ritmo



extensión de su retracción.

✓ **Procedimiento:**

- Limpiar la zona de punción con una torunda con alcohol (de preferencia el pulpejo del dedo anular).
- Dejar que el alcohol se seque.
- Puncionar hasta una profundidad de 3 mm con una lanceta estéril. Poner en marcha el cronómetro.
- Se desecha la primera gota de sangre a continuación, se llena capilar sin heparina hasta las dos terceras partes.
- A partir del tercer minuto de la punción, se invierte el capilar constantemente hasta observar que no haya desplazamiento de la sangre. Si es necesario, se rompe el capilar para observar el tiempo en que se forman los hilos de fibrina o en su defecto tratar que una gota de la punta caída sobre un papel, para poder observar si se ve un hilo entre el capilar y el papel.
- Si ya no hay desplazamiento o se observan los primeros hilos de fibrina, es el momento en que se detiene el cronómetro.

✓ **Valores de referencia:** Los valores oscilan entre 3 a 5 minutos.

3. Tiempo de Protrombina (TP)

- **Valor normal:** 11-15 segundos
- **INR:** 0.8-1.2

4. Tiempo Parcial de Tromboplastina (TPT)

- **Valor normal:** 25-35 segundos



ÁREA DE BIOQUÍMICA

✚ Etapa pre-analítica

→ Causas de Variación Previas a la Recolección

- a) **Variables del ciclo biológico:** Se refiere a los cambios en la concentración de los compuestos analizados, que ocurre de forma predecible a ciertas horas del día, semana o mes.
 - **Pruebas Sujetas a Variación Diurna:** Fosfatasa ácida, ACTH, Catecolaminas, Cortisol (y otros esteroides adrenales), Hormona del Crecimiento, Tolerancia a la Glucosa, Hierro, Osteocalcina, Hormona Paratiroidea, Prolactina, Renina/aldosterona y TSH.
 - **Pruebas Afectadas por la Ingestión de Alimentos:** Cloro, Glucagón, Glucosa, Hormona del Crecimiento, Insulina, Calcio Ionizado, Fosfato, Potasio, Triglicéridos y pH en Orina.
- b) **Variables físicas relacionadas con el paciente:** El ejercicio físico es una causa común controlable de variación en los resultados de las pruebas de laboratorio. Dentro de las pruebas químicas de rutina se ha observado que: el potasio, el fósforo, la creatinina y las proteínas séricas son significativamente alterados por un período breve de ejercicio. Con el ejercicio regular, hay un aumento en las enzimas relacionadas con la actividad muscular y un aumento en la concentración de ácido úrico en sangre. El ejercicio intenso, como correr en un maratón, produce una rápida elevación en la concentración del potasio, ácido úrico, bilirrubina y enzimas musculares, mientras que la concentración de glucosa y fósforo disminuyen significativamente. En personas sometidas a entrenamiento para competencias de distancias largas, las concentraciones de gonadotropina y esteroides sexuales están marcadamente disminuidas, mientras que la concentración de prolactina está aumentada.

→ Sustancias interferentes

Las sustancias interferentes para las diferentes pruebas de química sanguínea, pueden ser muy diversas. Es necesario que el operador conozca los interferentes específicos para cada prueba, lo cual se puede hallar fácilmente en los insertos que ofrecen las casas comerciales junto con los reactivos. Sin embargo, hay sustancias que cuando se presentan en altas concentraciones en suero, pueden ser interferentes en la mayoría de las pruebas bioquímicas. Tal es el caso de la Hemoglobina, la Bilirrubina y las grasas. En los tres casos, cuando se encuentran en altas concentraciones (por hemólisis en el caso de la hemoglobina, o por falta de ayuno, en el caso de las grasas), se afecta a las lecturas colorimétricas de las pruebas. Sin embargo, existen métodos (como el de la dilución de la muestra o el uso de blanco muestra) para corregir las interferencias de estos compuestos cuando su concentración es de normal a moderadamente elevada.



✚ Pruebas de Funcionamiento Renal

Los riñones desempeñan tres funciones principales: La eliminación de residuos, el mantenimiento del volumen y la composición del líquido extracelular (LEC), incluido el equilibrio ácido-básico y la síntesis de las hormonas. También contribuyen a la provisión de glucosa en estados de ayuno por medio de la gluconeogénesis.

1. Ácido Úrico

El ácido úrico es el producto final del metabolismo de la purina en el organismo humano. El ácido úrico se determina en el diagnóstico y el tratamiento de numerosos trastornos renales y metabólicos, tales como la insuficiencia renal, la gota, la leucemia, la psoriasis, la inanición y otros trastornos nutricionales, así como en pacientes bajo tratamiento con citostáticos.

Niveles altos de ácido úrico están también asociados a patología renal por retención de productos nitrogenados, asociándose en estos casos a valores también altos de urea y de creatinina.

- ✓ **Método:** Enzimático-Colorimétrico.
- ✓ **Muestra clínica:**
 - Suero.
 - Plasma.
 - Orina de 24 horas: Diluir 1:50 con agua destilada, mezclar y seguir la técnica, manteniendo a pH >8 (Multiplicar el resultado por 50).
- ✓ **Consideraciones importantes e interferencias:**
 - La hemolisis (hasta 130 mg/ dL de hemoglobina), la bilirrubina hasta 170 umol/L y el ácido ascórbico hasta 570 umol/L, no interfieren con los resultados.
- ✓ **Valores de referencia:**
 - **Suero o Plasma:**
 - **Mujeres:** 2,5 - 6,8 mg/ dL \cong 149 - 405 μ mol/ L
 - **Hombres:** 3,6 - 7,7 mg/ dL \cong 214 - 458 μ mol/ L
 - **Orina:** 250 - 750 mg/ 24h \cong 1,49 - 45 mmol/ 24h

2. Urea

La urea es el producto final nitrogenado más importante del metabolismo de las proteínas. Se sintetiza en el hígado en el ciclo de la urea a partir del amoníaco derivado de la desaminación de los aminoácidos. Los riñones excretan la mayor parte de la urea, aunque



también se excreta en cantidades mínimas a través de la transpiración y se degrada en los intestinos por acción bacteriana. La determinación del nitrógeno de urea en sangre es la prueba más utilizada para el cribado de la función renal.

- ✓ **Método:** Cinético-UV
- ✓ **Muestra clínica:**
 - Suero.
 - Plasma heparinizado.
 - Orina de 24 horas: Diluir 1:50 con agua destilada, mezclar y seguir la técnica. (Multiplicar el resultado por 50, mantener a pH<4 para evitar crecimiento bacteriano).
- ✓ **Consideraciones importantes e interferencias:**
 - No emplear sueros o plasmas turbios o hemolizados.
 - No usar sales de amonio o fluoruro como anticoagulantes.
- ✓ **Valores de referencia:**
 - **Suero o Plasma:** 15 – 45 mg/ dL \cong 2,49 – 7,49 mmol/ L
 - **Orina:** 20 – 35 g/ 24 h

3. Creatinina

La creatinina sérica es un producto de desecho formado por deshidratación espontánea de la creatina corporal. La mayor parte de la creatina orgánica se encuentra en el tejido muscular, donde está presente como fosfato de creatina y sirve de reserva rica en energía en la conversión a adenosina trifosfato (ATP).

La velocidad de formación de la creatinina es prácticamente constante, transformándose el 1 al 2 % de la creatina corporal a creatinina cada 24 horas. La eliminación de creatinina en el cuerpo humano tiene lugar casi exclusivamente a través de la filtración glomerular, siendo un importante índice del funcionalismo renal.

- ✓ **Método:** Colorimétrico-Cinético.
- ✓ **Muestra clínica:**
 - Suero.
 - Plasma heparinizado.
 - Orina de 24 horas: Diluir 1:50 con agua destilada, mezclar y seguir la técnica. (Multiplicar el resultado por 50).
- ✓ **Consideraciones importantes e interferencias:**
 - La hemolisis (1g/ dL de hemoglobina) y la bilirrubina 55 mg/ dL interfieren.
 - No utilizar sueros lipémicos.



✓ **Valores de referencia:**

- **Suero o Plasma:**

- **Mujeres:** 0,6 -1,1 mg/ dL \cong 53,0 – 97,2 μ mol/ L
- **Hombres:** 0,7 – 1,4 mg/ dL \cong 61,8 – 123,7 μ mol/ L

- **Orina:** 15-25 mg/ Kg/ 24 h

- **Mujeres:** 8-18 mg/ Kg/ 24 h
- **Hombres:** 10-20 mg/ Kg/ 24h

- **Depuración de Creatinina:**

- **Hombres:** 94 - 140 ml/min/1,73 m²
- **Mujeres:** 72 - 110 ml/min/1,73 m²

✚ **Equilibrio Hidroeléctrico y gases en sangre**

Los electrolitos están implicados en la mayoría de las funciones metabólicas del organismo. Se incorporan principalmente con la alimentación, se absorben en el tracto gastrointestinal y se excretan por los riñones. Los electrolitos son iones cargados positiva o negativamente, que están disueltos en todos los líquidos corporales, siendo el ión sodio (Na⁺) el principal catión extracelular y el ión potasio (K⁺) el principal catión intracelular. Dentro de las células los principales aniones son las proteínas y el fosfato, mientras que en el líquido extracelular predominan el cloruro (Cl⁻) y el bicarbonato (HCO₃⁻).

1. Sodio

El ión sodio (Na⁺) es el principal catión extracelular. Mantiene la distribución de los líquidos en el organismo y la presión osmótica.

✓ **Método:** Enzimático- Colorimétrico.

✓ **Muestra clínica:**

- Suero.
- Plasma con heparina de litio.

✓ **Valores de referencia:**

- **Suero o Plasma:** 136 – 146 mmol/ L \cong 313 – 336 mg/ dL

2. Potasio

El ión potasio (K⁺) es el principal catión intracelular y reviste importancia crítica para actividades de las células nerviosas y musculares.

✓ **Método:** UV Test

✓ **Muestra clínica:**



- Suero.
- Plasma con heparina de litio.
- ✓ **Valores de referencia:**
- **Suero o Plasma:** 3,5 – 5,1 mmol/ L \cong 13,7 – 19,9 mg/ dL

3. Cloruro

El ión cloruro (Cl⁻) es el principal anión extracelular más importante y sirve para regular el equilibrio extracelular de distribución de líquidos.

- ✓ **Método:** Colorimétrico
- ✓ **Muestra clínica:**
- Suero.
- Plasma con heparina de litio.
- Orina de 24 horas: Diluir 1/2 con agua destilada, mezclar y seguir la técnica. (Multiplicar el resultado por 2).
- ✓ **Consideraciones importantes e interferencias:**
- Sólo se puede usar la heparina como anticoagulante, ya que otros, como el oxalato o EDTA interfieren en los resultados.
- ✓ **Valores de referencia:**
- **Suero o Plasma:** 95 – 115 mmol/ L
- **Orina:** 110 - 250 mmol/ 24h

✚ Metabolismo óseo y mineral

1. Calcio

- ✓ **Método:** Colorimétrico
- ✓ **Muestra clínica:** Suero – Plasma – Orina 24h
- ✓ **Valores de referencia:**
- **Suero o Plasma:**
- **Adultos:** 8,5 - 10,5 mg/ dL \cong 2,1 – 2,6 mmol/ L
- **Niños:** 10 – 12 mg/ dL \cong 2,5 - 3 mmol/ L
- **Recién nacidos:** 8 – 13 mg/ dL \cong 2 – 3,25 mmol/ L
- **Orina:**
- **Adultos:** 50 – 300 mg/ 24h \cong 1,25 – 7,5 mmol/ 24h
- **Niños:** 80 – 160 mg/ 24h \cong 2 – 4 mmol/ 24h

2. Fósforo

- ✓ **Método:** UV Test



- ✓ **Muestra clínica:** Suero – Plasma – Orina 24h
- ✓ **Valores de referencia:**
 - **Suero o Plasma:**
 - **Adultos:** 2,5 – 5,0 mg/ dL \cong 0,80 – 1,61 mmol/ L
 - **Niños:** 4,0 – 7,0 mg/ dL \cong 1,29 – 2,26 mmol/ L
 - **Orina:**
 - **Adultos:** 0,4 – 1,3 g/ 24h

3. Magnesio

- ✓ **Método:** Colorimétrico
- ✓ **Muestra clínica:** Suero – Plasma – Orina 24h
- ✓ **Valores de referencia:**
 - **Suero o Plasma:** 1,6 – 2,5 mg/ dL \cong 0,66 – 1,03 mmol/ L
 - **Orina:** 24 – 244 mg/ 24 horas \cong 2 – 21 mEq/ L/ 24 horas

✚ Metabolismo de carbohidratos y lípidos

1. Glucosa

- ✓ **Método:** Enzimático-Colorimétrico
- ✓ **Muestra clínica:** Suero – Plasma
- ✓ **Consideraciones importantes e interferencias:**
 - El suero debe separarse lo antes posible del coagulo
 - La muestra debe recolectarse en ayuno, por lo menos de 8 horas previas a la toma de muestra.
- ✓ **Valores de referencia:**
 - **Suero o Plasma:**
 - **Recién nacidos prematuros:** 25-80 mg/dL
 - **Recién nacidos a término:** 30-90 mg/dL
 - **Niños y adultos:** 70 -110 mg/Dl

1.1. Glucosa postprandial

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



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

1.2. Prueba de Tolerancia Oral a la Glucosa

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

1.3. Hemoglobina Glicosilada y su fracción A1c (HbA1c)

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

✓ **Valores de referencia:**

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

2. Colesterol Total

✓ **Método:** Colesterol Oxidasa/Peroxidasa

✓ **Muestra clínica:** Suero – Plasma

✓ **Consideraciones importantes e interferencias:**

- El paciente debe encontrarse en un estado fisiológico regular (sin ejercicio vigoroso) y bajo su dieta ordinaria del día anterior
- La muestra debe recolectarse en ayuno total, durante un lapso de 12 a 14 previas a la toma de muestra.

✓ **Valores de referencia:**

- Menos de 200 mg/ dL..... Normal
- 200 -239 mg/gL..... Moderado



- ≥ 240 mg/ dL.....Alto

2.1. Fracciones de Colesterol (HDL, LDL y VLDL)

Los lípidos sintetizados en el hígado son transportados como lipoproteínas para ser empleados por las células del organismo. La circulación sistémica de colesterol es posible gracias a la formación de complejos solubles del colesterol con proteínas formando así las lipoproteínas: Lipoproteínas de baja densidad o LDL, las lipoproteínas de alta densidad o HDL, y las lipoproteínas de muy baja densidad o VLDL. En condiciones fisiológicas normales, las LDL se encuentran en mayor proporción (60-70%). Las HDL corresponden a un 25% y el resto, los constituyen las VLDL.

✓ **Valores de referencia:**

- **HDL – Colesterol:**

- **Deseable:** mayor a 40 mg/dL
- **Protector:** mayor a 60 mg/dL

- **LDL – Colesterol:**

- **Riesgo bajo o nulo (personas normales):** menor a 130 mg/dL
- **Riesgo moderado:** entre 130 y 159 mg/dL
- **Riesgo alto:** igual o mayor a 160 mg/dL

3. Triglicéridos

✓ **Método:** Enzimático-Colorimétrico

✓ **Muestra clínica:** Suero – Plasma heparinizado u con EDTA

✓ **Consideraciones importantes e interferencias:**

- El paciente debe encontrarse en un estado fisiológico regular (sin ejercicio vigoroso) y bajo su dieta ordinaria del día anterior
- La muestra debe recolectarse en ayuno total, durante un lapso de 12 a 14 previas a la toma de muestra.

✓ **Valores de referencia:**

- **Deseable:** menor a 150 mg/dL
- **De moderadamente elevado:** 150 a 199 mg/dL
- **Elevado:** 200 a 499 mg/dL
- **Muy elevado:** Igual o mayor a 500 mg/dL

🚑 Pruebas de Funcionamiento Hepático

1. Bilirrubina total y directa

→ **Bilirrubina indirecta o bilirrubina no conjugada.** Es la bilirrubina que aún se



encuentra unida a la albúmina, y no se ha conjugado al ácido glucurónico, en el hígado, para su eliminación.

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

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

✓ **Método:** Colorimétrico

✓ **Muestra clínica:** Suero – Plasma

✓ **Consideraciones importantes e interferencias:**

- La presencia de hemólisis disminuye el valor de la bilirrubina.
- Proteger la muestra de la luz.

✓ **Valores de referencia:**

- **Total:** 0,3 a 1,0 mg/dL

- **Directa o conjugada:** 0 - 0,3 mg/dL en adultos.

- **Indirecta o no conjugada:** 0,1 a 0,5 mg/dL adultos.

2. Albúmina

✓ **Método:** Colorimétrico

✓ **Muestra clínica:** Suero – Plasma

✓ **Consideraciones importantes e interferencias:**

- La hemólisis (hasta 1 g/ L de hemoglobina), la bilirrubina hasta 110 mg/ L y la lipemia hasta 10 g/ L interfieren con los resultados.

✓ **Valores de referencia:**

- **Suero o Plasma:** 3,5 - 5,0 g/ dL

3. Proteínas Totales

✓ **Método:** Colorimétrico

✓ **Muestra clínica:** Suero – Plasma heparinizado

✓ **Consideraciones importantes e interferencias:**

- La hemólisis y la lipemia interfieren con los resultados.

✓ **Valores de referencia:**

- **Suero o Plasma:**

• **Adultos:** 6,6 - 8,3 g/ dL

• **Recién nacidos:** 5,2 - 9,1 g/ dL



✚ Enzimología Clínica

1. Fosfatasa Alcalina ALP

- ✓ **Método:** Cinético
- ✓ **Muestra clínica:** Suero – Plasma heparinizado
- ✓ **Consideraciones importantes e interferencias:**
 - El fluoruro, oxalato, citrato y EDTA inhiben la actividad de la fosfatasa alcalina, por lo que no deben ser utilizados como anticoagulantes.
 - La hemólisis interfiere debido a la elevada concentración de fosfatasa alcalina en los eritrocitos.
- ✓ **Valores de referencia:**
 - **Suero o Plasma:**
 - **Adultos:** 27 - 100 U/L
 - **Niños:** 75 - 390 UL

2. Gamma Glutamil Transferasa (γ -GT/GGT)

- ✓ **Método:** Cinético
- ✓ **Muestra clínica:** Suero
- ✓ **Consideraciones importantes e interferencias:**
 - No utilizar plasma.
 - La actividad de la enzima debe ser determinada rápidamente.
 - Los anticoagulantes inhiben la enzima.
 - La hemólisis elevada interfiere el ensayo.
- ✓ **Valores de referencia:**
 - **Suero o Plasma:**
 - **Mujeres:** 4 – 18 U/ L
 - **Hombres:** 6 – 28 U/ L

3. Aspartato aminotransferasa- GOT (AST)

- ✓ **Método:** Cinético-UV
- ✓ **Muestra clínica:** Suero – Plasma
- ✓ **Consideraciones importantes e interferencias:**
 - La hemólisis elevada interfiere el ensayo.
- ✓ **Valores de referencia:**
 - **Suero o Plasma:**
 - **Mujeres:** Hasta 16 U/ L
 - **Hombres:** Hasta 19 U/ L



✚ Pruebas de Funcionamiento Cardíaco

1. Alanina aminotransferasa (GPT/ALT)

- ✓ **Método:** Cinético-UV
- ✓ **Muestra clínica:** Suero – Plasma
- ✓ **Consideraciones importantes e interferencias:**
 - La hemólisis elevada interfiere el ensayo.
- ✓ **Valores de referencia:**
 - **Suero o Plasma:**
 - **Mujeres:** Hasta 18 U/ L
 - **Hombres:** Hasta 22 U/ L

2. Creatin cinasa (CK)

- ✓ **Método:** Cinético-UV
- ✓ **Muestra clínica:** Suero – Plasma
- ✓ **Valores de referencia:**
 - **Suero o Plasma:**
 - **Mujeres:** Hasta 70 U/ L
 - **Hombres:** Hasta 80 U/ L

3. Lactato deshidrogenasa (LDH)

- ✓ **Método:** Cinético-UV
- ✓ **Muestra clínica:** Suero
- ✓ **Valores de referencia:**
 - **Suero:** 120 - 240 U/ L

4. Troponina Cardíaca

Troponina cardíaca (cTn), troponina cardíaca I (cTnI), troponina cardíaca T (cTnT), troponina cardíaca de alta sensibilidad (hs-cTn).

La troponina se encuentra en las células del músculo cardíaco. Cuando estas células sufren una lesión, pueden liberar troponina y otras sustancias en la sangre. Esto ocurre con mayor frecuencia cuando el corazón no recibe suficiente oxígeno y nutrientes.

- ✓ **Valores de referencia:**
 - **Troponina I:** entre 0 y 0.04 ng/ml
 - **Troponina cardíaca de alta sensibilidad (hs-cTn):** inferior a 14 ng/l.



5. CK-MB

La CK-MB es una enzima que se encuentra principalmente en el cerebro, el corazón y el músculo esquelético. Cuando los niveles de CK-MB son altos, puede deberse a daños en el músculo cardíaco, como un ataque cardíaco o una inflamación. También puede deberse a otras afecciones, como un coágulo de sangre en el pulmón.

En un infarto agudo de miocardio, la CK-MB aumenta en la sangre entre 3 y 6 horas después de que aparezca el dolor torácico. Alcanza su pico a las 12-24 horas y disminuye hasta alcanzar valores normales a las 48-72 horas.

- ✓ **Valores de referencia:**
 - **Adultos:** Entre 0 y 5 ng/mL
 - **Niños:** Menos de 4 ng/mL
 - **Recién nacidos:** Entre 1 y 25 ng/mL

✚ Pruebas de Funcionamiento Pancreático

1. Lipasa LPS

- ✓ **Método:** Cinético-Colorimétrico
- ✓ **Muestra clínica:** Suero – Plasma
- ✓ **Valores de referencia:**
 - **Suero:** ≤ 38 U/ L

2. Alfa-Amilasa (AMS)

- ✓ **Método:** Cinético
- ✓ **Muestra clínica:** Suero – Plasma – Orina
- ✓ **Valores de referencia:**
 - **Suero:** Hasta 90 U/ L
 - **Orina:** Hasta 450 U/ L

3. Fosfatasa ácida total y prostática

- ✓ **Método:** Cinético
- ✓ **Muestra clínica:** Suero
- ✓ **Valores de referencia:**
 - **Fosfatasa Acida Total (ACP):** < 9 U/L
 - **Fosfatasa Acida Prostática (PAP):** $< 3,5$ U/L



GASOMETRÍA

La gasometría arterial es una prueba diagnóstica que permite analizar de manera simultánea el estado de oxigenación, ventilación y ácido-base de una persona.

→ Toma de muestra:

Las punciones arteriales se realizarán con el bisel de la aguja hacia arriba, pero en función a la arteria elegida el ángulo de punción será diferente:

- **Arteria radial:** la punción se realizará a 45° respecto a la muñeca.
- **Arteria humeral:** existe cierta controversia a la hora de determinar cuál es el ángulo óptimo para la punción, siendo habituales las angulaciones de 30°, 60° o 90° con respecto al plano anatómico en dirección cefálica.
- **Arteria femoral:** el ángulo recomendado de punción es de 90° respecto a la extremidad.

Se debe acceder con cuidado durante la punción hasta que se visualice el reflujo sanguíneo y comience a llenarse la jeringa (el diseño del émbolo de baja resistencia permite el llenado debido a la presión de la arteria, pero también realizar una aspiración manual en caso necesario).

El llenado mínimo necesario de la jeringa depende del tipo, tamaño y modelo comercial de la misma, siendo habitualmente suficiente una cantidad comprendida entre 1-2 mL de sangre.

En aquellas personas con pulso débil o en los que se presentan dificultades en la extracción, puede ser necesario retroceder hasta justo debajo de la piel y cambiar la angulación. Sin embargo, esto puede provocar la entrada de aire en la muestra, convirtiéndola en no válida. Además, se deben evitar los movimientos con la aguja en planos profundos para no lesionar los tejidos adyacentes.

Una vez obtenida la muestra, proceder a retirar la aguja y presionar con ayuda de una gasa o torunda. Se debe accionar el sistema antipinchazos de la aguja (en caso de disponer de él) y desecharla en un contenedor de objetos corto-punzantes.

→ Conservación y transporte

La muestra de sangre arterial debe ser transportada y analizada en el laboratorio a la mayor brevedad posible siendo su demora uno de los principales motivos de error en su resultado.



Las muestras deben mantenerse a temperatura ambiente y ser analizadas en un plazo máximo de 30 minutos desde su extracción debido a la presencia de diferentes procesos tiempo-dependientes.

→ **Interpretación básica de los resultados**

Los parámetros fundamentales que se obtienen a partir de una gasometría de sangre arterial son, principalmente, la presión parcial de oxígeno (PaO_2), la presión parcial de anhídrido carbónico (PaCO_2), la concentración de hidrogeniones (pH), la saturación de O_2 (SaO_2), el bicarbonato (HCO_3^-) y el exceso de base (EB).

- ✓ El **valor de presión parcial de oxígeno (PaO_2)** en sangre arterial corresponde a la presión parcial ejercida por el O_2 disuelto en el plasma. Si bien su valor varía con la edad, la altitud y la fracción inspirada de O_2 (FiO_2), en personas adultas en condiciones basales (a nivel del mar, en reposo y respirando aire ambiente) se consideran valores en el rango de la normalidad los situados entre 96 mmHg y 100 mmHg.

Nota: La hipoxemia aparece si la PaO_2 de una persona adulta es inferior a 80 mmHg, y la insuficiencia respiratoria cuando la PaO_2 está por debajo de los 60 mmHg. La hipoxemia puede ser ligera (PaO_2 71-80 mmHg), moderada (PaO_2 61-70 mmHg), grave (PaO_2 45-60 mmHg) y muy grave ($\text{PaO}_2 < 45$ mmHg).

- ✓ La **presión parcial de anhídrido carbónico (PaCO_2)** corresponde con la presión parcial ejercida por el CO_2 disuelto en la sangre considerándose cifras normales (normocápnicos) aquellas situadas entre 35 y 45 mmHg.

Nota: Una PaCO_2 con un valor menor de 35 mm Hg indica hipocapnia, mientras que un resultado superior a los 45 mmHg indica hipercapnia.

- ✓ El **valor de pH sanguíneo** es la concentración de hidrogeniones en el plasma y otros fluidos corporales. Los valores normales de pH de la sangre arterial oscilan entre 7,35 y 7,45.
- ✓ El **bicarbonato o HCO_3^-** es el reflejo del estado metabólico en los gases arteriales y, en caso de necesitar un sistema compensatorio, el riñón puede retenerlo o excretarlo. Se consideran valores normales los situados entre 22 y 26 mEq/L.
- ✓ El **exceso de base (EB)**, por su parte, es un valor calculado que expresa la cantidad de ácido o base requerida para normalizar 1 litro de sangre al pH normal de 7,4. Su valor normal es de -2 a +2.

La interpretación de una gasometría arterial puede ser compleja y dificultosa. No obstante, existen unos pasos sencillos que se pueden seguir para detectar una acidosis o alcalosis, tanto respiratoria como metabólica:



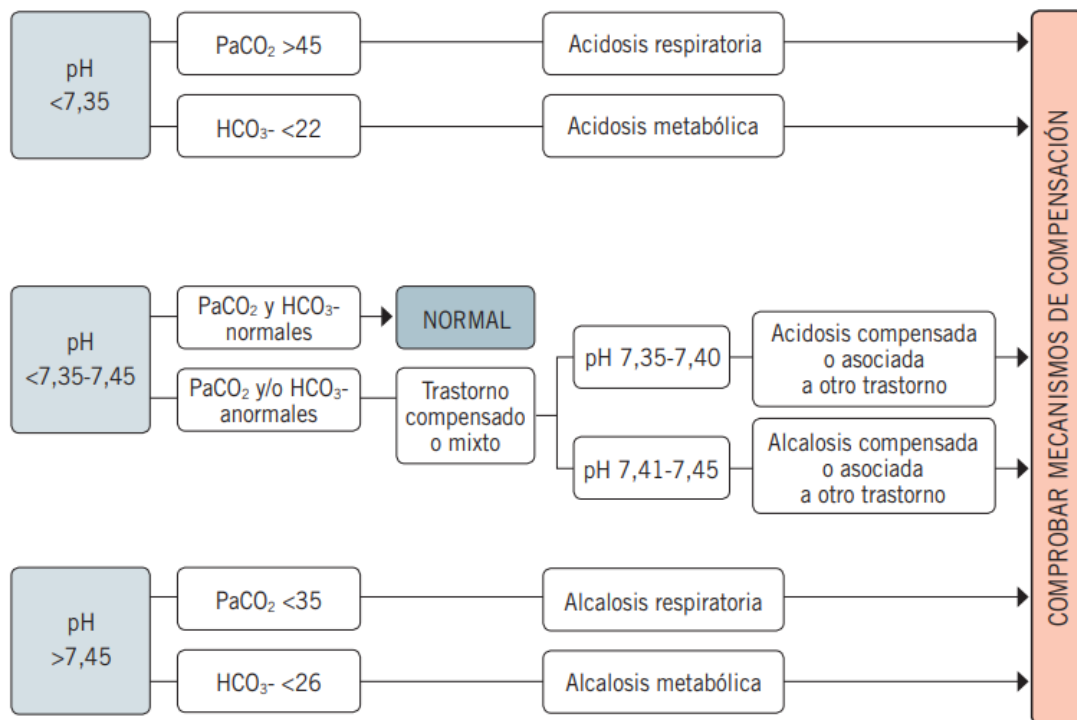
- ✓ **Paso 1: Determinar el PaO₂ y SpO₂:** Hay que considerar la alteración en estos valores que podrían indicar una hipoxemia. Valores <80 mmHg de la PaO₂ o <95% de SpO₂ indicaría una hipoxemia.
- ✓ **Paso 2: Determinar el pH:** se debe valorar su estado, si es normal o está alterado. En caso de estar alterado hay que observar la dirección de la alteración:
 - Si es **negativa (<7,35)** se considera la existencia de una acidosis.
 - Si es **positiva (>7,45)** existiría una alcalosis.
- ✓ **Paso 3: Determinar la PaCO₂:** debe valorarse si está alterada. Dependiendo de la dirección de dicha alteración nos encontraremos ante una acidosis (>45 mmHg) o una alcalosis (<35 mmHg) del componente respiratorio.
- ✓ **Paso 4: Determinar el HCO₃⁻:** se debe valorar su estado, si es normal o está alterado. En caso de estar alterado hay que observar la dirección de la alteración:
 - Si es **negativa (<22 mEq/L)** se trataría de una acidosis del componente metabólico.
 - Si es **positiva (>26 mEq/L)** se trataría de una alcalosis del componente metabólico.
- ✓ **Paso 5: Identificar del origen de la alteración del equilibrio ácido-base:** es necesario concretar si se trata de un componente respiratorio, metabólico o de ambos. Para ello, hay que comparar el resultado de pH con el de PaCO₂ y HCO₃⁻ y ver si son congruentes. Por ejemplo:
 - Si el pH muestra una acidosis, el PaCO₂ señala una acidosis y el HCO₃⁻ es normal, al coincidir el pH y el PaCO₂ (componente respiratorio) estaríamos ante una acidosis respiratoria.
- ✓ **Paso 6: Determinar la existencia de algún tipo de compensación:**
 - **Compensación completa:** el pH es normal, pero están alterados tanto el PaCO₂ como el HCO₃⁻ en direcciones opuestas (uno señala alcalosis y la otra acidosis).
 - **Compensación parcial:** el pH está fuera del rango normal y están alterados tanto el PaCO₂ como el HCO₃⁻ en direcciones opuestas (uno señala alcalosis y la otra acidosis). Esto se traduce en que el organismo está intentando realizar una compensación, pero no es exitosa.
 - **Descompensación:** el pH está fuera del rango normal, y uno de los componentes (PaCO₂ o HCO₃⁻) no es congruente con la dirección en la que se inclina el pH.



→ Valores de referencia:

ARTERIAL	VENOSA
Equilibrio ácido base	
pH: 7,35 – 7,45	pH: 7,35 – 7,45
pCO₂: 35 – 45 mmHg	pCO₂: 35 – 45 mmHg
HCO₃⁻: 22 – 26 mmol/L	HCO₃⁻: 22 – 26 mmol/L
CO₂: 23 – 30 mmol/L	CO₂: 23 – 30 mmol/L
Oxigenación	
pO₂: 70 – 100 mmHg	pO₂: 28 – 40 mmHg
HB: 12 – 16 g/dL	HB: 12 – 16 g/dL
HTO: 37 – 47%	HTO: 37 – 47%
SO₂: 95 – 100%	SO₂: 62 – 84%
Electrolitos	
Na⁺: 135 -145 mmol/L	Na⁺: 135 -145 mmol/L
K⁺: 3,5 – 5 mmol/L	K⁺: 3,5 – 5 mmol/L
Ca⁺: 1,15 – 1,35 mmol/L	Ca⁺: 1,15 – 1,35 mmol/L
Cl⁺: 95 -105 mmol/L	Cl⁺: 95 -105 mmol/L

→ Algoritmo diagnóstico de alteraciones equilibrio ácido-base en gasometrías arteriales





ÁREA DE SEROLOGÍA – INMUNOLOGÍA

Pruebas rápidas inmunológicas – serológicas:

1. VDRL Test

- ✓ **Fundamento:** Las reagentas plasmáticas presentes en individuos infectados por *T. pallidum* se detectan en suero por la reacción con un antígeno cardiolipínico purificado y estabilizado. Si la muestra contiene reagente, esta se unirá al antígeno produciendo una floculación visible en microscopio.
- ✓ **Conservación de reactivos:** 2-8°C.
- ✓ **Tipo de muestra:** Suero
- ✓ **Procedimiento:**
 - Ver inserto según casa comercial.
 - Dejar atemperar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente.
 - Depositar 50 ul de la muestra a ensayar y una gota de cada control en círculos separados en la lámina de vidrio para VDRL.
 - Añadir a cada círculo una gota de reactivo próxima a la muestra a analizar.
 - Mezclar con ayuda de un palillo desechable, procurando extender la mezcla por toda la superficie interior del círculo. Emplear palillos distintos para cada muestra.
 - Agitar la lámina a 180 r.p.m. durante 4 minutos.
- ✓ **Interpretación:**
 - Examinar microscópicamente la presencia o ausencia de floculación. Los resultados se evalúan de acuerdo con el siguiente criterio:

Tipo de floculación	Lectura	Resultado
Flóculos grandes, medianos o pequeños	R (Reactivo)	Positivo
Ningún flóculo	NR (No reactivo)	Negativo

2. Aso Antiestreptolisinas látex

El anticuerpo antiestreptolisina O se encuentra presente en casi todas las personas en títulos bajos, debido a que las infecciones estreptocócicas son comunes. Sin embargo, un título alto o creciente de antiestreptolisina O, indica una infección reciente producida por



un estreptococo beta hemolítico de grupo A, como amigdalitis, escarlatina, sepsis puerperal, erisipela.

- ✓ **Fundamento:** Los anticuerpos antiestreptolisina O se detectan en suero por su reacción con la estreptolisina O adsorbida sobre soporte inerte de látex. Los anticuerpos antiestreptolisina reaccionan con la estreptolisina produciendo una aglutinación visible macroscópicamente.
- ✓ **Tipo de muestra:** Suero.
- **Sustancias interferentes conocidas:** los sueros marcadamente lipídicos o contaminados pueden dar resultados falsamente positivos.
- ✓ **Valores de referencia:**
 - **En adultos:** menores o iguales a 200 IU/ml.
 - **En niños:** menores o iguales a 150 IU/ml.

3. Leptospira IGM

El enzimoimmunoensayo Leptospira IgM ELISA se utiliza para la determinación cualitativa de anticuerpos IgM específicos contra Leptospira en suero o plasma (heparina) humano.

- ✓ **Fundamento:** La determinación inmunoenzimático cualitativa de anticuerpos específicos se basa en la técnica ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay). Las microplacas están recubiertas con antígenos específicos unen a los anticuerpos de la muestra. Después de lavar los pocillos para eliminar todo el material de muestra no unido, el conjugado de peroxidasa de rábano (HRP) se añade. Este conjugado se une a los anticuerpos capturados. En una segunda etapa de lavado se retira el conjugado no unido. El complejo inmune formado por el conjugado unido se visualizó añadiendo substrato tetrametilbencidina (TMB), que da un producto de reacción azul. La intensidad de este producto es proporcional a la cantidad de anticuerpos específicos en la muestra. Se añade ácido sulfúrico para detener la reacción. Esto produce un cambio de color de azul a amarillo. La extinción a 450/620 nm se mide con un lector de microplacas ELISA.
- ✓ **Tipo de muestra:** Suero – Plasma
- ✓ **Interpretación:**
 - **Cut-off:** 10 U.
 - **Positivo:** > 11 U. Los anticuerpos contra el patógeno están presentes. Ha producido un contacto con el antígeno.



- **Zona intermedia:** 9 – 11 U. Los anticuerpos contra el patógeno no se pudieron detectar claramente. Se recomienda repetir la prueba con una muestra fresca en 2 a 4 semanas. Si el resultado es de nuevo en la zona intermedia, la muestra se considera como negativa.
- **Negativo:** < 9 U La muestra no contiene anticuerpos contra el patógeno. Un contacto previo con el antígeno es poco probable.

4. TORCH

El conjunto de pruebas rápidas de sangre que se especializa en la detección cualitativa de anticuerpos IgM contra Toxoplasmosis, virus de la Rubeola (Rubeola), Citomegalovirus (CMV) y virus de Herpes Simplex 1/2 (HSV 1/2) en suero humano o plasma es denominado TORCH.

5. Proteína C Reactiva

La proteína C reactiva es una alfa-globulina anormal que aparece rápidamente en el suero de pacientes con enfermedades inflamatorias de origen infeccioso o no infeccioso.

- ✓ **Tipo de muestra:** Suero.
- ✓ **Procedimiento:**
 - Atemperar el reactivo y los controles a temperatura ambiente.
 - Homogenizar el reactivo PCR látex con agitación suave.
 - Comprobar la funcionalidad del reactivo mediante los controles positivo y negativo.
 - Dosificar 50 µl (1 gota) de suero problema a analizar en un círculo de la placa de reacción SIN DILUIR.
 - En otro círculo de la placa depositar una gota de suero control positivo.
 - En el tercer círculo depositar una gota de suero control negativo.
 - Añadir a cada círculo una gota del reactivo PCR látex, previamente resuspendido.
 - Mezclar con ayuda del aplicador de madera y extender la muestra en todo el círculo.
 - Mover la placa en forma rotatoria durante 2 min.
 - Al cabo de este tiempo observar la aparición o ausencia de aglutinación.
- ✓ **Interpretación:**
 - **Resultado positivo:** Presencia de aglutinación indica un nivel de PCR igual o superior a 6 mg/l en la muestra (aglutinación comparable al control positivo).



- **Resultado negativo:** Ausencia de aglutinación indica un nivel de PCR inferior a 6 mg/l en la muestra (sin aglutinación comparable al control negativo).

Nota: En caso de obtener un resultado positivo realizar la cuantificación de PCR.

- ✓ **Valores Normales:** Adultos < 6 mg/l.

6. Factor Reumatoide

El factor reumatoide es un anticuerpo circulante que reacciona con algunos componentes de inmunoglobulinas, la producción de dicho factor es resultado de la respuesta por parte del individuo hacia uno o más determinantes antigénicos específicos presentes en sus propias gammaglobulinas.

- ✓ **Tipo de muestra:** Suero.
- ✓ **Procedimiento:**
 - Atemperar el reactivo y los controles a temperatura ambiente.
 - Homogenizar el reactivo FR-látex con agitación suave.
 - Comprobar la funcionalidad del reactivo mediante los controles positivo y negativo.
 - Dosificar 50 µl (1 gota) de suero problema a analizar en un círculo de la placa de reacción SIN DILUIR.
 - En otro círculo de la placa depositar una gota de suero control positivo.
 - En el tercer círculo depositar una gota de suero control negativo.
 - Añadir a cada círculo una gota del reactivo FR-látex, previamente resuspendido.
 - Mezclar con ayuda del aplicador de madera y extender la muestra en todo el círculo.
 - Mover la placa en forma rotatoria durante 2 min.
 - Al cabo de este tiempo observar la aparición o ausencia de aglutinación.
- ✓ **Interpretación:**
 - **Resultado positivo:** Presencia de aglutinación indica un nivel de FR igual o superior a 8 UI/ml en la muestra (aglutinación comparable al control positivo).
 - **Resultado negativo:** Ausencia de aglutinación indica un nivel de FR inferior a 8 UI/ml en la muestra (sin aglutinación comparable al control negativo).

Nota: En caso de obtener un resultado positivo realizar la cuantificación de PCR.

- ✓ **Valores Normales:** Adultos < 8 UI/ml



7. Reacciones febriles

Las reacciones febriles, son de valor en el diagnóstico de infecciones como la fiebre tifoidea (*Salmonella typhi*), paratifoideas (*Salmonella enteritidis*, *S. paratyphi A* y *B*), tifo epidémico (*Rickettsia prowazekii*) y brucelosis o fiebre de malta (*Brucella sp.*).

Estas reacciones se encuentran compuestas por tres:

- R. de Widal utilizada para el diagnóstico de fiebre tifoidea y paratifoideas.
- R. de Huddleson empleada en brucelosis.
- R. de Weil-Felix en tifo epidémico.

8. Prueba inmunológica de embarazo – Tiras de hCG

La gonadotropina coriónica humana (hCG) es una hormona producida por la placenta de mujeres embarazadas. Es detectable, tanto en orina como en suero, de 7 a 10 días tras la concepción, por lo que la hace un indicador ideal del embarazo.

- ✓ **Fundamento:** Consiste en un ensayo inmucromatográfico de flujo lateral.
- ✓ **Tipo de muestra:**
 - **Suero:** La muestra de suero debe ser recogida en condiciones de laboratorio estándares (asépticamente de tal modo que se evite la hemólisis).
 - **Orina:** Para la detección óptima de embarazos tempranos, es preferible recoger la primera orina de la mañana, puesto que ésta contiene la máxima concentración de hCG.
- ✓ **Procedimiento:**
 - Atemperar la muestra y los otros materiales necesarios para el test, antes realizar el ensayo.
 - Dispensar 0,5 mL de muestra en un pequeño tubo o vial.
 - Introduzca verticalmente la tira hCG en la muestra durante 5 segundos para las muestras de orina o 10 segundos para las muestras de suero. No sobrepasar la marca roja. Si el nivel de muestra en el tubo es menor de 1,5 cm, se puede dejar la tira dentro del tubo hasta finalizar el tiempo de reacción.
 - En caso contrario, coloque la tira en otro tubo o sobre una superficie limpia, plana y seca.
 - Leer en ambos casos el resultado a los 3-5 minutos.

Nota: No interpretar resultados transcurridos 10 minutos.



✓ **Interpretación:**

- **Negativo:** Si sólo aparece una banda coloreada transversal en la zona blanca superior (banda control).
- **Positivo:** Además de la banda transversal roja (control) aparece una segunda banda transversal roja (test) en la zona blanca central de la t a. ir. Cualquier resultado positivo debe ser confirmado con un método más específico antes de dar una determinación positiva.
- **No válido:** Si no aparece ninguna banda coloreada visible se recomienda repetir el test con una nueva placa o obtener una muestra fresca y testarla 48 horas después.

9. HIV 1 y 2

El Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH o HIV, por sus siglas en inglés) es un virus que afecta al sistema de defensas del organismo, llamado sistema inmunológico.

- **Pruebas de tercera generación:** Detecta anticuerpos del HIV-1 y HIV-2 entre 21 y 24 días después de la infección.
- **Pruebas de cuarta generación:** no solo detectan anticuerpos, sino también detectan el antígeno p24, una proteína existente en el VIH, lo cual hace que ese periodo de tiempo para poder hacer una detección, se reduzca a solo 15 días desde la infección.
- ✓ **Fundamento:** Consiste en un ensayo inmucromatográfico de flujo lateral. Los anticuerpos de VIH si están presentes migran y se unen a los conjugados de este mismo, formando una línea de color borgoñona indicando un resultado reactivo.
- ✓ **Tipo de muestra:** Suero - Plasma
- ✓ **Procedimiento:**
 - Retirar el casete de prueba de la bolsa sellada.
 - Colocar el casete sobre una superficie limpia y nivelada.
 - Para muestras de Suero o Plasma: Mantenga el gotero verticalmente y transfiera 1 gota de suero o plasma (aproximadamente 25 uL) al área de la muestra, después adiciona 1 gota de tampón (aproximadamente 40 uL), e inicie el temporalizador.
 - Esperar que la línea(s) coloreada aparezca. Leer el resultado después de 10 minutos. No interpretar el resultado después de 20 minutos.



✓ **Interpretación:**

- **No Reactivo:** cuando no se detectan anticuerpos anti VIH ausencia de color en las líneas 1 y 2.
- **Reactivo:** cuando se detecta el antígeno p24 o anticuerpos anti VIH ya sea 1 o 2 dependiendo de la línea que aparezca.

1. Hepatitis

La hepatitis es un tipo de enfermedad del hígado que causa inflamación del hígado. La causa más común de hepatitis es un grupo de virus llamados hepatitis A, hepatitis B y hepatitis C. Un perfil de hepatitis es un análisis de sangre para averiguar si usted tiene una infección causada por uno de estos virus.

✓ **Resultados del examen para hepatitis A:**

- **Anticuerpos IgM contra el virus de la hepatitis A (VHA),** usted ha tenido una infección reciente con hepatitis A
- **Anticuerpos totales (IgM e IgG) contra la hepatitis A,** usted tuvo una infección reciente o pasada o inmunidad frente a la hepatitis A

✓ **Resultados de los exámenes para la hepatitis B:**

- **Antígeno de superficie de la hepatitis B (AgHB):** usted tiene una infección activa de hepatitis B, ya sea reciente o crónica (durante mucho tiempo).
- **Anticuerpo contra el antígeno central de la hepatitis B (AgHBc):** usted tiene una infección reciente o pasada de hepatitis B
- **Anticuerpo contra el antígeno de superficie de la hepatitis B (AgHBs):** usted tuvo una infección de hepatitis B en el pasado o usted ha recibido la vacuna contra la hepatitis B y es improbable que resulte infectado
- **Antígeno E de la hepatitis B (AgHBe):** usted tiene una infección de hepatitis B y usted es más propenso a contagiar la infección a otros a través del contacto sexual o por compartir agujas

✓ **Resultados de los exámenes para la hepatitis C:**

- Los anticuerpos contra la hepatitis C se pueden detectar casi siempre de 4 a 10 semanas después de que contrae la infección.

2. Sífilis

- ✓ **Fundamento:** La inmunocromatografía es una técnica que permite detectar anticuerpos específicos para la sífilis en una prueba rápida de sangre. Esta prueba



es un inmunoensayo cromatográfico que detecta la presencia de anticuerpos IgG e IgM contra *Treponema Pallidum* (TP), el agente que causa la sífilis.

- ✓ **Tipo de muestra:** Sangre total – Suero – Plasma
- ✓ **Procedimiento:**
 - Llevar las muestras y componentes del ensayo a temperatura ambiente si es refrigerada o congelada. Mezcle bien la muestra antes del ensayo una vez descongelado.
 - Abrir el empaque y sacar el dispositivo. Colocarlo sobre una superficie limpia y plana.
 - Llenar la pipeta con la muestra. En posición vertical, agregar 1 gota (30-45 μ L) de muestra o 1 gota de sangre total (40-50 μ L) dentro del pozo de muestra. Asegurándose de que no hayan burbujas de aire.
 - Inmediatamente agregar 1 gota (35-50 μ L) de diluyente de muestra con la botella in posición vertical.
 - Los resultados deben ser leídos a los 15 minutos. Los resultados positivos o reactivos se hacen visibles transcurrido 1 minuto

Nota: No leer los resultados después de 20 minutos. Para evitar confusiones descarte el casete después de leer el resultado.

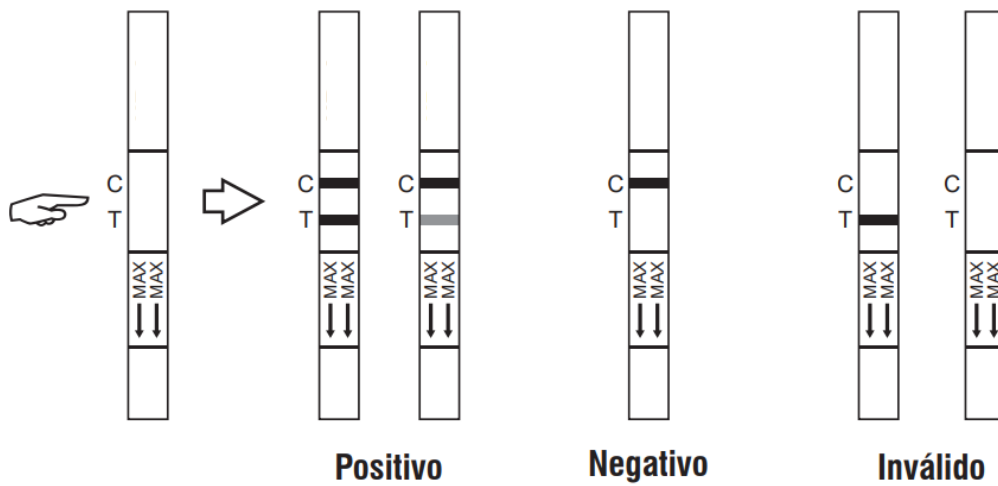
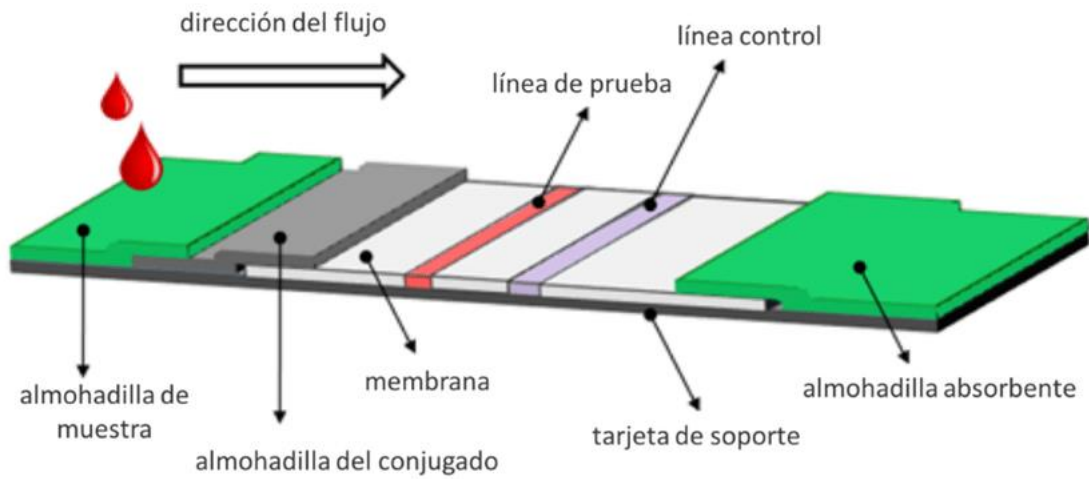
- ✓ **Interpretación:**
 - **Resultado negativo:** Si solo se desarrolla color en la banda C, la prueba indica que no hay anticuerpos detectables de anti-Tp presentes en la muestra. El resultado es negativo.
 - **Resultado positivo:** Ambas bandas C y T desarrollan color, la prueba indica la presencia de anticuerpos anti-Tp en la muestra. El resultado es positivo.

Nota: Las muestras con resultados reactivos deben ser confirmados con métodos alternativos y junto con la sintomatología clínica antes de hacer una determinación como positiva.

- **Resultado invalido:** Si la banda C no se colorea, el ensayo se considera inválido a pesar de que las otras bandas se tiñan. Se debe realizar nuevamente la prueba en otro casete.



Método inmunocromatográfico





ÁREA DE MICROBIOLOGÍA

Principios de la Garantía de Calidad

Conceptos claves a considerar previo a la realización de prácticas en el laboratorio.

→ Toma y selección de la muestra

Tener en cuenta criterios para rechazo de muestra considerando, que se obtiene la muestra ideal para la prueba que se va a realizar, que se obtiene de la manera correcta, que es transportada al laboratorio en el medio de transporte adecuado correctamente rotulado y que llega al laboratorio en el tiempo asignado.

→ Procesamiento de la muestra.

El procesamiento optimiza la viabilidad de los analitos a procesar, considerando de igual manera la visualización y la recuperación del patógeno. Teniendo la capacidad de poder juzgar la calidad de la muestra.

→ Medios y reactivos

Se debe realizar regularmente el control de calidad de reactivos y medios a utilizar.

→ Equipos

Deben controlarse regularmente. Con el mantenimiento preventivo.

→ Métodos

La realización de la prueba es consistente, no importa quien la realice.

→ Fundamento de la prueba y sus limitaciones

El interpretar, el fundamento de la prueba hace más fácil su realización y posibilita la detección de tanto falsos positivos como negativos.

→ Referencias, documentación e informes

La referencia verificada permite confirmar que la prueba se está realizando de la manera descrita. La documentación de las pruebas de control de calidad las valida y facilita resolver los posibles problemas.

→ Seguridad

Siendo la parte fundamental la capacidad de que todo el personal debe comprometerse en la seguridad del laboratorio.



Aspectos de Seguridad en el Laboratorio

→ **Los diez mandamientos de seguridad básica en el laboratorio**

Mantenimiento y vigilancia:

... Siempre... ¡esté alerta!

Protección de uno mismo y de los otros

- Delimite las áreas de fumar, beber y comer y el almacenamiento de productos alimenticios y bebidas en áreas no contaminadas, externas al laboratorio.
- Recójase el cabello. Evite la ropa suelta y las joyas cuando trabaje con materiales de riesgo biológico, inflamables o maneje equipos.
- Use protección personal apropiada, equipos mínimos de protección, use una bata o delantal. Quítese la bata antes de salir del laboratorio.
- Esté familiarizado con los lugares y procedimientos de seguridad y equipos de emergencia, por ejemplo, extinguidores de fuego, alarmas de fuego, primeros auxilios, equipos de lavado de emergencia.
- Practique frecuentemente el lavado de las manos.

"Lo que se debe conocer":

- Observe y practique el manejo seguro, el almacenamiento y los procedimientos de desecho.
- Trate todas las sustancias desconocidas como peligrosas.

Buen mantenimiento:

- Mantenga preparadas y a la mano las soluciones desinfectantes.
- Esté familiarizado con los procedimientos de limpieza y desinfección.

Contenedores

Utilización de cabina de seguridad al manejar patógenos altamente peligrosos.

Equipo de seguridad

Esté familiarizado con las operaciones de seguridad de los equipos

Educación continuada

Ponga al día y revise de forma regular los procedimientos existentes.

Plan de emergencia

Esté familiarizado con procedimientos de emergencia para manejar accidentes peligrosos.

Documentación y seguimiento

Tener un seguimiento de todos los accidentes, incidentes peligrosos y enfermedades ocupacionales sospechosas.

Área restringida

Mantenga la puerta cerrada del área donde se está laborando.



✚ **Equipo de protección personal (EPP)**

- Ropa de protección
- Máscaras faciales
- Protección de los ojos
- Guantes de caucho

Los guantes NO reemplazan el lavado adecuado de las manos. Siempre lávese las manos después de quitarse los guantes. Los guantes pueden ser inflados antes de su uso soplando como si fuera un balón) para controlar si tienen perforaciones.

- Máscaras quirúrgicas simples
- Respiradores

Descontaminación

Procedimientos que remueven la contaminación por destrucción de los microorganismos; lo que hace a los objetos seguros para su desecho o uso.

Esterilización

Destrucción completa o remoción de todos los microorganismos por medios físicos o químicos, usualmente se logran artículos estériles para el uso.

Desinfección

Destrucción de tipos específicos de organismos, usualmente por medios químicos. La desinfección es un medio de descontaminación.

Métodos de descontaminación de desechos del laboratorio

- Desinfectantes químicos
- Autoclave
- Incineración

El autoclave

El calor produce una lisis de las enzimas de las proteínas estructurales de los microorganismos lo que facilita su destrucción. El tiempo de destrucción depende de la resistencia al calor y de las condiciones de esterilización. El procedimiento de muerte térmica es más rápido en vapor saturado que en calor seco.



✚ Obtención y el procesamiento de muestras

Es un proceso crucial ya que se trata de identificar el agente causal de dicha infección por lo tanto las muestras deben obtenerse antes de cualquier tratamiento con drogas terapéuticas ya sean de uso tópico, ingesta o intravenosa. Conocer el área de recolección debido a la existencia de microbiota habitual existente. El procesamiento debe ser de urgencia para su correcta interpretación.

1. Urocultivo

Escherichia coli es la implicada en el 75-90% con mayor frecuencia, y la principal responsable de las pielonefritis y cistitis. Su incidencia nosocomial se ve disminuida a expensas de otros microorganismos oportunistas: *Proteus*, *Serratia* o *Pseudomonas*, cuya acción patógena está favorecida por la presencia de enfermedades debilitantes, antibioterapia e inmunosupresión, así como por maniobras quirúrgicas.

Examen macroscópico:

Se aborda el: olor, color, aspecto, pH, densidad.

Examen microscópico:

El sedimento de 10 ml de la orina centrifugada (3.000 rpm/15 minutos) se examina en fresco, disponiendo de una gota de este colocándolo en un portaobjeto y posteriormente colocar el cubreobjeto y observarla con el lente de 40x

Preparación para tinción:

Se toma una gota del sedimento con pipeta Pasteur, se coloca sobre una lámina portaobjeto con un pequeño extendimiento, luego se colorea con la técnica de Gram.

Cultivo y recuento de colonias

Generalmente se recomienda la utilización de un agar sangre (AS) y un agar CLED o un medio selectivo diferencial como MK o EMB. En niños incluir un agar chocolate suplementado para la recuperación de *Haemophilus*

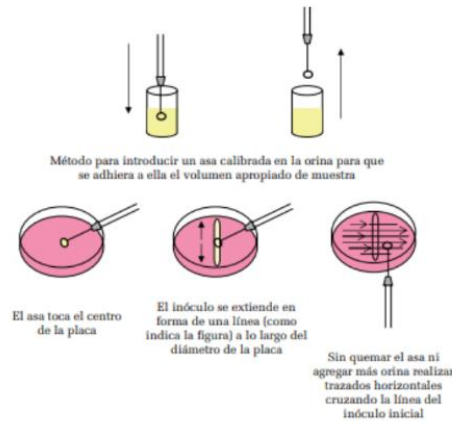
El Agar CLED (cistina-lactosa-electrolito-deficiente) su contenido en cistina y lactosa y la presencia del azul de bromotimol (como indicador de pH) facilitan diferenciar a las bacterias fermentadoras de lactosa, que tienen la capacidad de acidificar el medio, virando



el indicador de pH al color amarillo (color que toman las colonias). Así mismo, la deficiencia en electrolitos inhibe el carácter invasor de las colonias de *Proteus*

Procedimiento

- Mezclar cuidadosamente la orina en forma de ocho.
- Insertar el asa estéril verticalmente en la muestra y luego diseminarla sobre la superficie de la placa, formando una línea y posteriormente hacer estrías sobre la placa cruzando la línea del inóculo varias veces.
- Incubar las placas durante 18–24 horas a 37 °C en aerobiosis y el Agar sangre en microaerofilia y en anaerobiosis si la muestra así lo exigiera. En caso de tener cultivos negativos a las 24 horas, se deben incubar 24–48 horas más.



Análisis cualitativo

La identificación de los agentes se hace mediante el estudio de las características microscópicas de las colonias y la utilización de los sustratos del medio, ejemplo: lactosa, hemólisis y la identificación final a través de pruebas fisiológicas diferenciales, como la prueba de la oxidasa, acción sobre azúcares.

Análisis cuantitativo

Se recomienda contar el número de colonias y multiplicar por el factor 1000 o 100, de acuerdo con la capacidad del asa utilizada, para determinar las unidades formadoras de colonia por mililitro de orina (UFC/ml).

Técnicas de hemocultivo

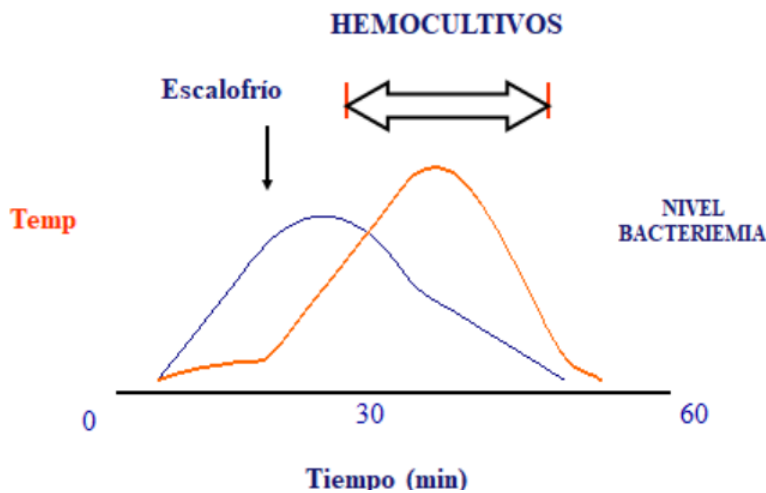
Los factores que intervienen en la sensibilidad de hemocultivos son: fisiopatología de los procesos, el número de extracciones, la cantidad de sangre que se extraiga cada vez y las



medidas que se tomen para inhibir o neutralizar las propiedades bactericidas normales de la sangre.

La cantidad de sangre que se obtenga en cada extracción dependerá de la edad del paciente: en pacientes pediátricos generalmente se obtendrá de 1-3 mL. Los niños tienen un número mayor de unidades bacterianas formadoras de colonias por mililitro de sangre.

Momento del Hemocultivo



Obtención de la muestra:

Realizar la extracción lo debe de realizar con técnica aséptica (cubre bocas, gorro, higiene de manos, bata, guantes)

- Colocar torniquete palpación de vena
- Realizar antisepsia con alcohol 70% sachet o clorhexidina al 2% en una zona de piel de 5 cm de diámetro alrededor del sitio de punción, realizando círculos concéntricos, desde adentro hacia fuera. Permitir que el alcohol se seque (1 minuto) o la clorhexidina (2 minutos).

ATENCIÓN: no soplar para acelerar el secado del antiséptico, no tocar el área desinfectada sin guantes estériles. Evitar hablar durante el procedimiento, para minimizar el riesgo de contaminación de la piel preparada para la punción.

- Extraer la sangre por punción venosa. Inyectar directamente la sangre en el frasco de hemocultivo al vacío. Si se utiliza jeringa sacar la aguja e inmediatamente colocar algodón seco para evitar contaminación.



- Si se utilizan frascos para cultivo aerobio y anaerobio, inocular primero la botella para aerobios y luego la de anaerobios.
- Invertir la botella varias veces para mezclar.
- Descartar la aguja en forma segura (contenedor rojo de paredes rígidas). Desechar todo el material utilizado

2. Retrocultivo

Hemocultivos extraídos por vías venosas centrales

1. Técnica aséptica (cubrebocas, gorro, higiene de manos, bata, guantes)
2. Desinfectar la llave del catéter con sachet impregnadas con alcohol al 70% o gasas con alcohol y clorhexidina al 2%. Dejar secar.
3. Quitar la tapa plástica del/los frascos de hemocultivo y desinfectar el tapón de goma con alcohol 70%. Dejar secar.
4. Colocarse nuevos guantes estériles.
5. Quitar el tapón del catéter y conectar la jeringa.
6. Opcional: extraer 3 ml de sangre (pacientes adultos) o 1 ml (pacientes pediátricos) y desechar.
NOTA: No realizar toma de retrocultivo en la hora posterior a la administración de antibióticos por dicho catéter.
7. Con una nueva jeringa extraer la sangre para cultivo.
8. Colocar la aguja a la jeringa e inyectar la sangre en el frasco de hemocultivo.
9. Invertir la botella varias veces para mezclar.
10. Desechar la aguja en forma segura (contenedor de paredes rígidas).
11. Limpiar de nueva cuenta la entrada catéter con sachet impregnadas con alcohol al 70% o gasas con alcohol con clorhexidina al 2%. Dejar secar y colocar el tapón del catéter.

Condiciones para la incubación.

Los frascos hemocultivos de las casas comerciales, tienen atmósfera adecuada para la recuperación de bacterias. Es importante que este sea ubicado en el equipo Bd Bactec lo que permite realizar una excitación de las bacterias, determinando un cambio de color en la base del frasco. Este debe ser reportado a partir del día quinto hasta el séptimo día de incubación.

Tabla de guía para el procesamiento de los hemocultivos



Mu estras	Tiempo de incubación					
	2 4 horas	48 horas	72 horas	4° día	5 ° día	6° día
I	G ram resiemb ra en ACh	Ob servar	ob servar	ob servar	G ram resiemb ra en ACh	ob servar informar

Medios de cultivos mayoritariamente utilizados

- ACh = agar chocolate incubar en atmósfera de 5% CO₂
- AS = agar sangre incubar en atmósfera de 5% CO₂
- MC = agar MacConkey incubar en aerobiosis

Líquido cefalorraquídeo (LCR)

En aquellos pacientes sospechosos de tener un proceso infeccioso del SNC representa uno de los procedimientos urgentes, más importantes, que deben realizarse en el laboratorio de microbiología clínica

A todo niño con sospecha de meningitis, se le debe practicar una punción lumbar antes de iniciar la terapia antibiótica, ya que ésta disminuye la posibilidad de aislar el agente causal.

La obtención de líquido cefalorraquídeo es un procedimiento invasivo que debe ser realizado sólo por personal médico con experiencia y en un hospital.

Una muestra de 3 mL como mínimo, deberá ser obtenida para el análisis microbiológico, citoquímico y/o serológico; de los cuales 1 mL se usará para el análisis citoquímico.

El transporte inmediato de la muestra al laboratorio para su procesamiento es esencial pues algunos microorganismos exigentes.

Procesamiento

El LCR éste debe centrifugarse por 15 minutos a 10.000 rpm, o por 20 minutos a 5.000 rpm, con el objeto de realizar la concentración.



- El sobrenadante es removido y el sedimento es utilizado para el cultivo y para preparar dos extendidos. Uno se colorea con Gram y el otro se conserva sin colorear.
- Las preparaciones directas de LCR coloreadas con Gram, deben ser observadas cuidadosamente tratando de cubrir un buen número de campos microscópico
- El sedimento se deberá sembrar en cajas de agar sangre de cordero al 5%, agar chocolate y en un caldo nutritivo e incubarse a 37°C de 24 a 48 h en una atmósfera de 5-7% de CO₂
- Una vez aislado el agente causal se realizará antibiograma por método de CIM (concentración inhibitoria mínima) para conocer la susceptibilidad del mismo.

Importante

- El recuento citológico se observa en una respuesta inflamatoria, lo cual orientara al diagnóstico de una meningitis. La prevalencia leucocitaria de PMN en meningitis bacteriana, mientras que en una meningitis tuberculosa, micótica, o por protozoarios la respuesta es linfocitaria. Aunque los PMN pueden ser predominantes en el curso temprano de las meningitis asépticas, puede ocurrir un cambio a células mononucleares. •
- A todo LCR se le debe determinar químicamente niveles de glucosa y proteínas. La glucorraquia está baja en casos agudos bacterianos y normal en otros casos. Las proteínas están usualmente elevadas.

Otros líquidos corporales: pleural, sinovial, peritoneal

En pacientes con derrame pleural, si existe indicación clínica, debe realizarse la punción pleural antes de iniciar la terapia antibiótica, debido a que ésta última puede reducir la posibilidad de aislar el agente causal.

Para determinar si es exudado o transudado se realiza el test de rivalta el cual consiste en determinar si la proteína es mayor a 2,5 mg/dL se considerará trasudado debido a que es un líquido que no pertenece a esa cavidad.

Procesamiento

- Colocar el tubo en un tubo tapa rosca
- Se debe prevenir la formación de coágulos ya que se investigó que en estos se quedan atrapados los microorganismos Es la importancia que la muestra no puede exceder la hora para su procesamiento. Se debe determinar el aspecto de los líquidos



- Centrifugue durante 15 minutos a 10.000 a rpm o por 20 minutos a 5.000 rpm, procese luego el sedimento; las muestras francamente purulentas deben examinarse directamente.
- Prepare dos extendidos, uno para colorear con Gram y el otro se deja sin colorear.
- Inocule las muestras sobre placas de agar sangre de cordero al 5% y agar chocolate suplementado; incube en jarra con vela de 5-7% de CO₂, por 24-48 h.

Secreción nasofaríngea

Toma de muestra

Util cuando se va a buscar *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* y *Bordetella pertussis*. Se toma con un escobillón (hisopo) estéril, flexible, el cual se introduce por el piso de la fosa nasal hasta llegar a la parte posterior de la nasofaringe, se rota, se permite que permanezca allí más o menos por 30 segundos y luego se retira.

Medios de transporte

El medio de transporte empleado es el medio de Amies con carbón activado. Cuando se va a investigar *Bordetella pertussis* o *Neisseria meningitidis*, se utiliza Regan Lowe y Thayer Martin respectivamente.

Procesamiento

- Sembrar en agar sangre de cordero al 5% con gentamicina a una concentración de 5µg/mL. el estriado debe efectuarse por agotamiento, es decir, las colonias deben quedar bien aisladas.
- Las cajas de agar sangre de cordero, se incuban a 37°C en 5-7% CO₂ por 24-48 h
- Para el aislamiento de *H. influenzae*, la muestra se siembra directamente en agar chocolate se incuba a 37°C en 5-7% CO₂ por 24-48 h.
- Para el estudio de *Bordetella pertussis*, se utiliza el medio de Regan Lowe, se siembra directamente y se incuba a 37°C en 5-7% CO₂ hasta por 7 días.
- Para el estudio de portadores de *Neisseria meningitidis*, la muestra se siembra por agotamiento en medio de Thayer Martin y se incuba a 37°C en 5-7% CO₂, por 24-48 h.



Exudado de oído medio

Se considera a la otitis como una inflamación del revestimiento de la mucosa del oído medio; la bacteria infectante penetra a través de la trompa de Eustaquio, provocando una respuesta inflamatoria que favorece el cierre del orificio de entrada y la producción de una hipertensión interior, con producción de exudado o pus que puede llegar a drenar espontáneamente hacia el conducto externo

Los microorganismos más aislados son: *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *Branhamella catharralis* y con menos frecuencia *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* y anaerobios.

El estudio etiologico solamente se realiza cuando el especialista toma el exudado únicamente del oído medio por punción timpánica. No es aceptable el material drenado para el estudio bacteriológico.

Medios de aislamiento

Agar sangre de cordero, agar chocolate, caldo de carne con glucosa, tioglicolato y Sabouraud.



ÁREA DE UROANÁLISIS

Diagnóstico a través de muestra de orina, afecciones debido a que se puede obtener datos sobre algún padecimiento renal, hepático, del sistema urinario, alteraciones metabólicas, infecciones entre otras.

Examen físico

Incluye: el color, la claridad la densidad lo cual ayudan a proporcionar información acerca de trastornos como hemorragia glomerular, enfermedades hepáticas, metabolopatías congénitas e infección urinaria. Utilizados para explicar datos de los aspectos químicos y microscópicos del análisis urinario. La densidad ayuda a evaluar la función tubular renal.

Color

Varia de casi incoloro a negro puede deberse a funciones metabólicas normales, actividad física sustancias digerida o situaciones patológicas.

Color normal de orina

Debe tomarse la precaución de examinar la muestra con una buena fuente de luz y mirar el recipiente contra un fondo blanco. El urocromo pigmento que da el color amarillo de la orina su producción en cantidades mayores se produce en enfermedades hepáticas y estados de ayuna. Las descripciones normales son: Amarillo pálido; Amarillo oscuro; Ámbar

El urocromo aumenta en orina conservada en temperatura ambiente. Uroeritrina y urobilina, están presente en cantidades menores.

Uroeritrina un pigmento rosado es evidente en las muestras que han sido refrigeradas debido a la precipitación de uratos amorfos. Urobilina producto de oxidación del urobilinógeno urinario normal confiere el color anaranjado- marrón a la orina que no es reciente.





Claridad

La terminología indicada es límpida, brumosa, turbia y lechosa. Las muestras concentradas también generan turbidez no patológica.

Densidad

La capacidad de los riñones para reabsorber en forma selectiva las sustancias químicas esenciales y el agua desde el filtrado glomerular función importante del organismo.

Examen químico

Tiras reactivas

- Utilizadas en la actualidad proporcionando un medio rápido y sencillo para llevar a cabo el análisis de orina, constan de almohadillas en sustancias químicas adheridas a una tira plástica.
- Se logra producir una reacción química cuando la almohadilla absorbente toma contacto con la orina.
- Las reacciones se interpretan mediante la comparación del color producido sobre la almohadilla con una escala cromática provista.
- Mediante ala comparación meticulosa de los colores en la escala cromática y en la tira se puede informas un valor semicuantitativo expresado como **trazas, 1+, 2+, 3+, 4+**. En las áreas de pruebas se dispone de una estimación en mg/dL

Manipulación y almacenamiento

Las tiras reactivas deben estar protegidas del deterioro causada por la humanidad por la humedad, sustancias químicas volátiles el calor y la luz. Deben estar un en un recipiente opaco con un desecante para proteger de la luz y la humedad, ser almacena por debajo de los 30 °C. o tocar las almohadillas con las sustancias químicas cuando se extraen las tiras del frasco.

Control de calidad

Deben ser controladas con controles positivos y negativos al menos una vez cada 24 horas, de preferencia al comienzo de cada turno de trabajo. El agua destilada no se recomienda debido a que las almohadillas están fabricadas para reaccionar en concentraciones iónicas similares a la orina.

Técnica de la tira reactiva



- Consiste en sumergir por completo la tira reactiva, pero durante muy poco tiempo en muestras bien mezcladas y sin centrifugar a temperatura ambiente. Eliminar el exceso de la orina apoyando el borde de la tira sobre el recipiente mientras se la retira.
- Secar el borde de la tira sobre papel absorbente descartable. Esperar el tiempo especificado para que se produzca la reacción.
- Comparar la reacción de color de la almohadilla de la tira con la escala Cromática provista por el fabricante con una buena a iluminación

Las tiras reactivas abarcan

pH

Determina la existencia de trastornos sistémicos de equilibrio acido-base metabólico respiratorio. En acidosis respiratoria o metabólica. Oxalato de calcio presente en orinas acidas y no alcalinas Importante conocer el pH para identificar los cristales observados.

Proteínas

La presencia de proteína requiere de otras pruebas para determinar si la proteína presenta un cuadro normal. La proteína clínica está indicada por valores mayores o igual a 30 mg/L. Las causas de las proteínas pueden agruparse en prerrenal, renal y postrenal.

Glucosa

En circunstancia normales, casi toda la glucosa filtrada por el glomérulo se reabsorbe en el túbulo contorneado proximal por consiguiente la orina contiene unidades mínimas de glucosa La concentración en sangre en la que cesa la reabsorción la reabsorción tubular para la glucosa es de es de alrededor de 160 a 180 mg/dL

Cetonas

Representa tres metabolitos: Acetona, acido acetoacético, ácido betahidroxidroxibutirato. Las razones clínicas del aumento del metabolismo de las grasas son la incapacidad de metabolizar los hidratos de carbono

Sangre

El hallazgo de un resultado positivo en la prueba para sangre indica la presencia de eritrocitos, hemoglobina o mioglobina.

Bilirrubina



La aparición de bilirrubina en la orina puede proporcionar un indicio temprano de hepatopatía. A menudo se detecta bastante tiempo antes de la ictericia

Urobilinógeno

Se observa en hepatopatías y trastornos hemolíticos. Puede ser de valor en la detección de la hepatopatía temprana.

Nitritos

Cribado rápido para determinar la presencia de infecciones urinarias

Esterasa leucocitaria

Tiene la ventaja es que detecta la presencia de leucocitos que se lisaron en la orina diluida alcalina

Densidad

Permite conocer el estado de hidratación del organismo.

🚰 Preparación y examen del sedimento urinario

Deben examinarse muestras recientes o conservadas de manera adecuada. Los elementos formes sobre todo eritrocitos leucocitos se deterioran con rapidez.

La muestra limpia de chorro medio minimiza la contaminación del sedimento.

Debe tomarse a precaución de mezclar de mezclar en forma exhaustiva la muestra antes de centrifugar una porción en un tubo de centrifuga

Volumen de la muestra

Se centrifuga, por lo general entre 10 y 15 mL, en un tubo cónico. Esto proporciona un volumen adecuado para obtener una muestra representativa de los elementos presentes en la muestra. Con frecuencia se utiliza un volumen de 12 mL porque en esa **cantidad se sumergen con facilidad las tiras reactivas** de parámetros múltiples.

Centrifugación

La velocidad de la centrifuga y el tiempo deben ser uniformes. La centrifugación durante 5 minutos a una fuerza de centrifuga relativa 400 RCF produce una cantidad optima de sedimento.



Preparación del sedimento

Después de la decantación debe quedar en el tubo una cantidad uniforme de orina y de sedimento. Los volúmenes de **0,5 y 1,0 mL** son los que se usan con mayor frecuencia.

Las pipetas también se usan para resuspender el sedimento y transferir al portaobjetos.

El sedimento debe ser resuspendido por completo mediante agitación suave. Esto puede realizarse con la pipeta provista o dando golpecitos repetidos con el dedo en el fondo del tubo. Evitar la agitación vigorosa ya que algunos elementos celulares pueden romperse.

Volumen del sedimento examinado

El volumen de sedimento colocado en el portaobjetos debe ser uniforme para cada muestra. El volumen recomendado es de 20 μL cubriéndolo con un cubreobjetos de 22 x 22 mm por deslizamiento. **Si se deja que la muestra fluya fuera del cubreobjetos** puede producirse la **pérdida** de los elementos más pesados, como los **cilindros**.

Los sedimentos se examinen con luz baja intensidad al usar **microscopia óptica de campo claro**

Examen microscópico

Debe ser uniforme y debe incluir la observación de un mínimo de 10 campos con objetivo **seco débil (10x)** y **seco fuerte (40x)**.

El portaobjetos se examina primero con 10x para detectar cilindros y determinar la composición general del sedimento. Los cilindros tienen a ubicarse cerca de los bordes del cubreobjetos, por consiguiente, se recomienda realizar el barrido por los bordes del cubreobjetos.

A menudo hay una célula epitelial presente para proporcionar un punto de referencia. Debe evitarse enfocar en los artefactos, porque a menudo éstos son más grandes que los elementos regulares del sedimento.

El enfocado continuo ayuda a obtener una representación completa de los constituyentes del sedimento.



ÁREA DE COPROLOGÍA

En la confirmación de parásitos o sus productos de reproducción en muestras de pacientes sospechosos de tener una infección o parasitosis, se debe realizar la identificación morfológica de los organismos causantes. La regla de oro en Parasitología consiste en recobrar, identificar y demostrar el parásito con el propósito de determinar la etiología de la infección o enfermedad parasitaria.

Examen directo en solución salina fisiológica y en solución de Lugol

En solución salina fisiológica: Permite reconocer trofozoítos de protozoos, estadios de diagnóstico de protozoos y helmintos. Actualmente es considerado el método para detectar trofozoítos en una amebiasis invasora por *Entamoeba histolytica* en heces o en otros productos humanos. Sirve para cuantificar huevos de algunos helmintos.

En solución de Lugol: Permite colorear en forma temporal trofozoítos y quistes. Inmovilizar y colorear estructuras internas de larvas e identificar por morfología específica.

ÁREA DE BIOLOGÍA MOLECULAR

1. HIV-1 GeneXpert

Las pruebas para realizar son carga viral de HIV en la cual se necesita 4 ml de sangre en EDTA es decir en tubo tapa lila, por el método de Reacción de Cadena Polimerasa, en equipo Genexpert.

Hoy en día, la medición de la concentración de ARN de VIH-1 en plasma sanguíneo (conocida como carga viral de VIH) utilizando ensayos diagnósticos moleculares basados en ácidos nucleicos está establecida como la norma asistencial para evaluar el pronóstico de un paciente VIH-positivo y la respuesta al tratamiento antirretroviral. La valoración de los niveles de carga viral es un potente predictor de la velocidad de la evolución de la enfermedad y, por sí sola o junto con los recuentos de células T CD4, tiene un gran valor pronóstico





Es una prueba cuantitativa que permite realizar la determinación molecular a demanda.

Basada en la tecnología GeneXpert, la prueba automatiza el proceso de análisis, incluidas la extracción, purificación y transcripción inversa del ARN y la cuantificación en tiempo real del ADNc, en un único cartucho totalmente integrado.

Más que sencillo:

Fácil

- No requiere de salas específicas para PCR
- Sin mantenimiento diario ni gestión de residuos líquidos

Rápido

- El proceso dura 91 minutos con un informe de tendencias de carga vírica*
- Sin lotes, sin demoras
- Tiempo de manipulación mínimo

Flexible

- Disponibilidad con acceso aleatorio 24 horas al día y 7 días a la semana
- Permite realizar varias pruebas diferentes en la misma plataforma en cualquier momento.

2. Tuberculosis GeneXpert

De igual manera se realiza la detección de *Mycobacterium tuberculosis* y la resistencia a la Rifampicina mediante la aplicación de PCR en Tiempo Real (GeneXpert)

La tuberculosis es definida como aquella enfermedad transmisible, provocada por el *Mycobacterium tuberculosis*, que se propaga por vía respiratorias por ejemplo al momento de que una persona infectada tose y estas gotículas ingresan por vías respiratorias se otra persona sana, es un foco principal de propagación.

¿Cómo solicitar?

El profesional médico tan solo debe indicar en un recetario el análisis: MTB/RIF GeneXpert en esputo, para que el mismo sea realizado.

Requerimientos:

Para realización del análisis son necesarias muestras de esputo en frasco estéril

PCR Tiempo Real GeneXpert, en la cual es posible aplicar el análisis ampliamente recomendado por la OMS/OPS para la detección de *Mycobacterium tuberculosis* y la resistencia a Rifampicina.

- **Sensibilidad del 95%**, requiere de 131 UFC/mL para la detección de *M. tuberculosis*, mientras que la baciloscopía requiere entre 5.000 – 10.000 bacilos/uL para detectar el complejo *Mycobacterium*.



- **Especificidad del 94%** para identificar *Mycobacterium tuberculosis*, siendo de esta forma el análisis molecular con mejor performance en el mercado.
- Es capaz de identificar como blanco al gen **rpoβ**, que codifica para la resistencia a la **Rifampicina**, que es el antibiótico de primera línea para tratar la enfermedad.





CONTROLES

→ **Control Interno**

- Realizar controles diarios (normal, bajo y alto).
- Documentar resultados en gráficas de Levey-Jennings.
- Aplicar reglas de Westgard.

→ **Control Externo**

- Participar en programas de evaluación externa.
- Realizar comparaciones Inter laboratorios.
- Documentar y analizar resultados.

→ **Mantenimiento de Equipos**

- Seguir programa de mantenimiento preventivo.
- Documentar calibraciones.
- Registrar mantenimientos correctivos.

→ **Notas Importantes**

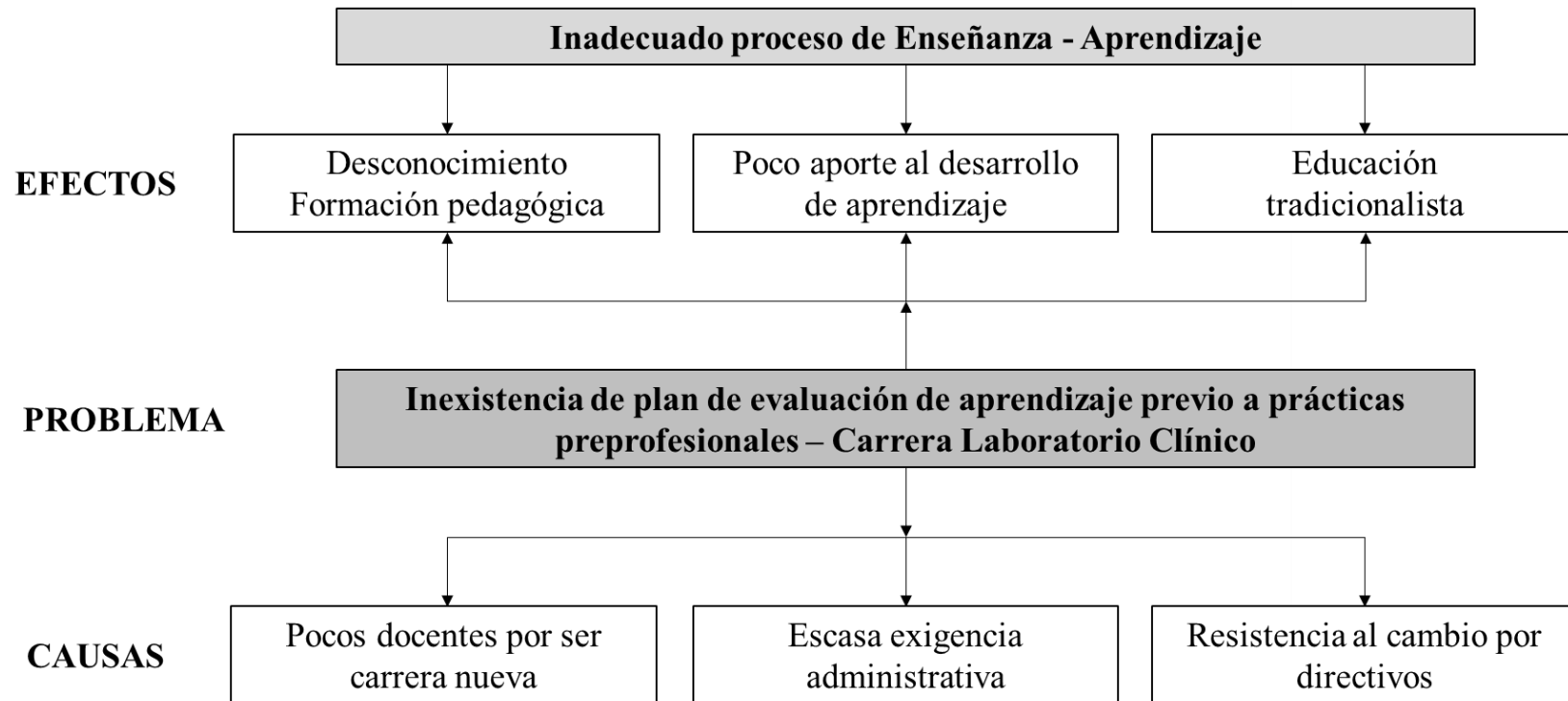
- Todas las pruebas deben realizarse siguiendo las precauciones universales de bioseguridad.
- Verificar fechas de caducidad de reactivos.
- Mantener registros detallados de control de calidad.
- Reportar valores críticos según protocolo establecido.



Anexo 1. Matriz de Involucrados

Grupos	Intereses	Percepciones	Poder y recursos
Directivos	Involucrados en el desarrollo y proceso de la propuesta en un cien por ciento.	Causas Escasa exigencia administrativa. Efectos Poco aporte al desarrollo del aprendizaje.	Se cuenta con la garantía de la Institución la formación continua y mejoramiento pedagógico.
Docentes	Dispuestos a formarse y colaborar en el reto y rol de los saberes psicopedagógicos en un cien por ciento.	Causas Resistencia al cambio por directivos. Efectos Educación tradicionalista.	Se cuenta con el talento humano, la logística y recursos para la ejecución del proyecto.
Estudiantes	Altamente positivo para la implementación de estrategias pedagógicas para el aprendizaje significativo de los estudiantes en un cien por ciento.	Causas Pocos docentes por ser carrera nueva. Efectos Desconocimiento, formación pedagógica.	Altamente motivados por la formación académica y profesional humanista, potencializadora con visión científica, investigadora e innovadora.

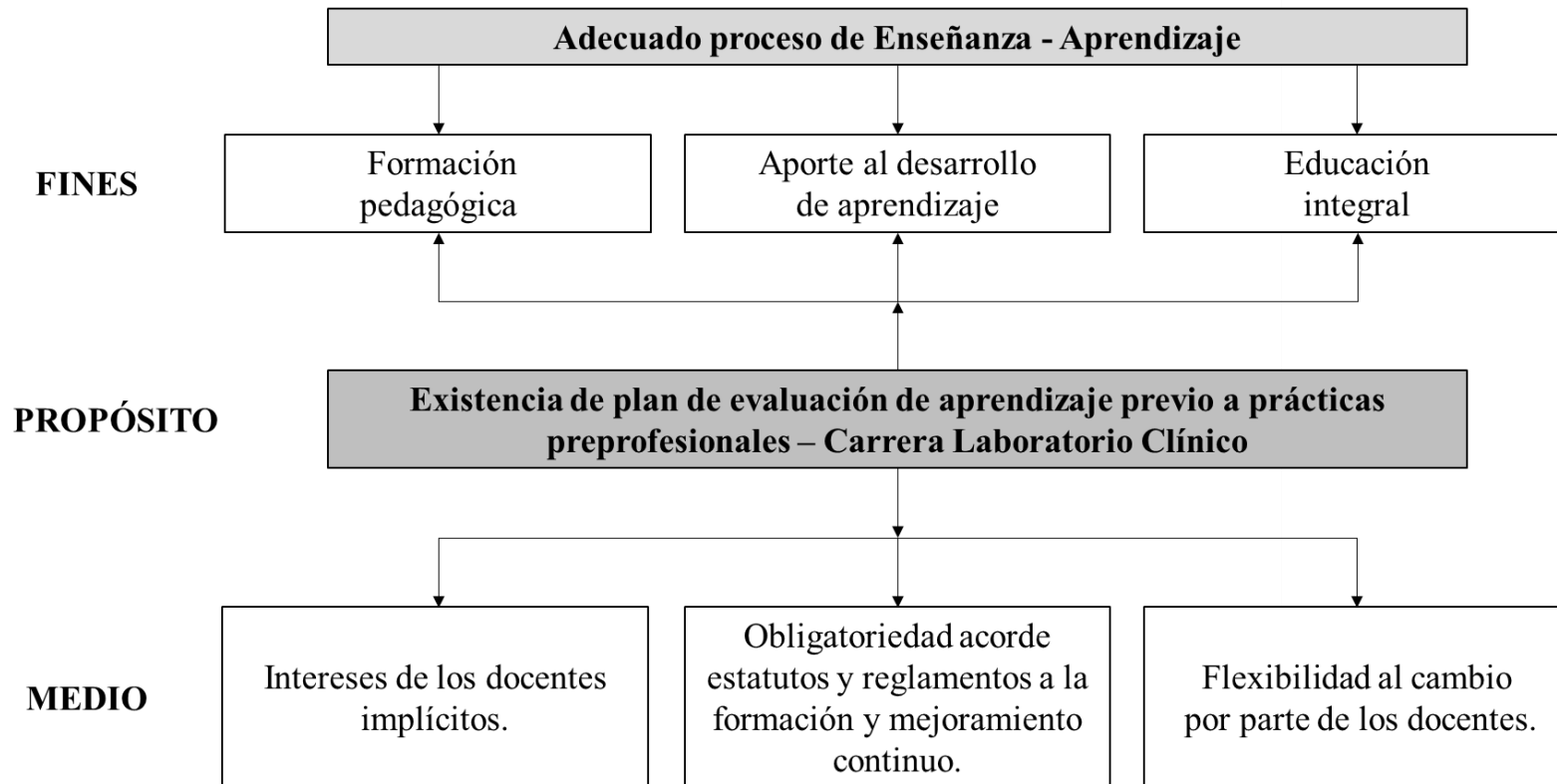
Anexo 2. Árbol del Problema



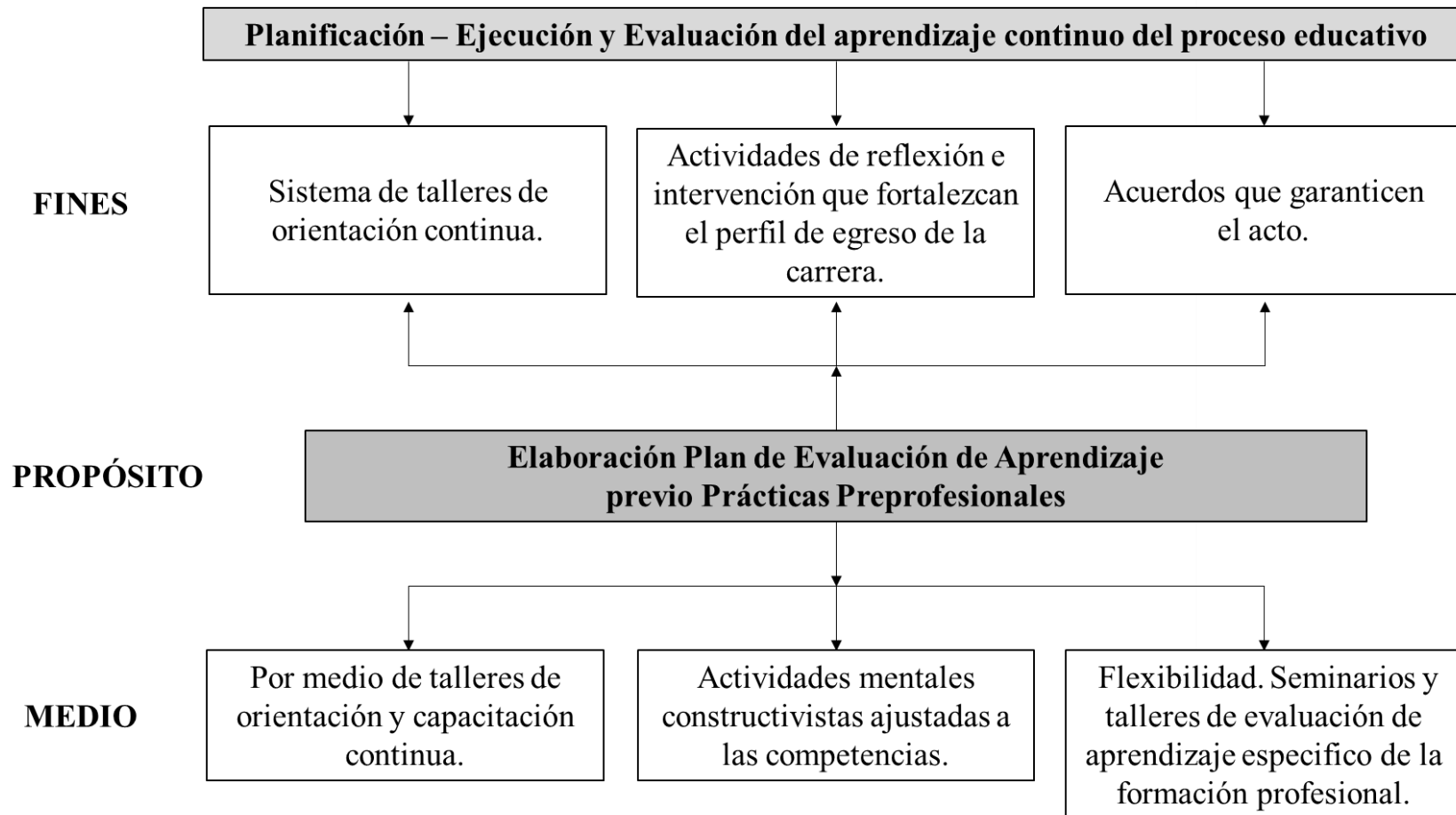
VI Evaluación de aprendizajes previo prácticas preprofesionales.

VD Aprendizaje significativo.

Anexo 3. Árbol de Objetivos



Anexo 4. Árbol de Estrategias





Referencias bibliográficas

Aznar, J., Núñez Roldán, A., de Haro Muñoz, T., & León Justel, A. (Agosto de 2009). *Manual de obtención y manejo de muestra para el Laboratorio Clínico*. Obtenido de Manual de obtención y manejo de muestra para el Laboratorio Clínico : http://sampac.es/images/site/documentacion/protocolos/otros/Manual_Obtencion_y_Manejo_Muestras_1.pdf

King Strasinger, S., & Schaub Di Lorenzo, M. (2010). *Análisis de Orina y de los Líquidos Corporales*. Buenos Aires : Ed. Médica Panamericana.

Becton, Dickinson and Company. (2013). *Orden de toma recomendada por Clinical and Laboratory Standards Institute*. Obtenido de Orden de toma recomendada por Clinical and Laboratory Standards Institute: <https://grupocc-lab.com.mx/wp-content/uploads/2022/10/Guia-de-toma-de-muestra-y-orden-de-toma.pdf>

Cañizares Camacho, E., & Madrid Castro, P. (2023). *Hospital Rodríguez Zambrano*. Obtenido de Recepción, aceptación, rechazo de muestras: https://cloud.hrz.gob.ec/index.php/s/Calidad-Protocolos?dir=undefined&path=%2F02_POES_PROCESOS%20OPERATIVOS%20ESTANDARIZADOS%20DE%20LABORATORIO_2023&openfile=124992

Cañizares Camacho, E., & Madrid Castro, P. (Abril de 2023). *Hospital Rodríguez Zambrano*. Obtenido de Hospital Rodríguez Zambrano : https://cloud.hrz.gob.ec/index.php/s/Calidad-Protocolos?dir=undefined&path=%2F02_POES_PROCESOS%20OPERATIVOS%20ESTANDARIZADOS%20DE%20LABORATORIO_2023&openfile=124972

Mérida de la Torre, F. (2014). *Manual para Técnico superior de laboratorio clínico y biomédico*. Madrid: Médica Panamericana.

Ministerio de Salud Pública de Ecuador. (2018). *Prevención, tratamiento, diagnóstico y control de la tuberculosis*. Quito: Dirección Nacional de Normatización.

Peña Cabia, A., & Giménez Alarcón, L. (2019). Importancia de la fase preanalítica en el Laboratorio clínico. *Sociedad Española de Medicina de Laboratorio*, 119 - 130.

Prada Quesada, F. J. (2010). *Diseño, implantación, procedimientos operativos y gestión de un laboratorio de análisis clínicos con capacidad para procesar 1000 muestras/día*. Obtenido de Diseño, implantación, procedimientos operativos y gestión de un



laboratorio de análisis clínicos con capacidad para procesar 1000 muestras/día:
<https://www.google.com/search?q=DISE%C3%91O%2C+IMPLANTACI%C3%93N%2C+PR>

Sánchez Díaz, J., Monares Zepeda, E., Peniche Moguel, G., Martínez Rodríguez, E., Martínez Aguilar, F., & Terán Soto, J. (2021). Fase preanalítica: "La solución está en nuestras manos". *Rev Mex Patol Clin Med Lab*, 68(3), 118-122.

Velasco, J., Araque, M., Araujo, E., Longa, A., Nieves, B., Ramírez, A., . . . Velazco, E. (2011). *Manual práctico de Bacteriología Clínica*. Mérida : Editorial Venezolana C. A.

Zboromyrska, Y., López, M., Alonso-Tarrés, C., & Sánchez-Hellín, V. (2019). *Diagnóstico microbiológico de 14b. las infecciones del tracto urinario*. España: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.