

207
30



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

ESTANDARIZACION DE REACTIVOS PARA EL
DIAGNOSTICO CLINICO

Informe de la Práctica Profesional

Que para obtener el Título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

presenta

JOSEFINA ESPINOSA MACIAS

México, D. F.



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

1986



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INTRODUCCION.

Como respuesta a las crecientes necesidades de los modernos laboratorios de diagnóstico clínico, se producen cada vez más reactivos y equipos, para realizar las pruebas con mayor exactitud y sensibilidad, en un menor tiempo.

La estandarización y optimización de los métodos para determinación de enzimas, es de vital importancia porque la actividad de la enzima es altamente dependiente de la temperatura, pH, clase de amortiguador y concentración del sustrato. Además el método deberá ser suficientemente sensible, altamente específico, deberá proporcionar resultados correctos y reproducibles y ser suficientemente simple para trabajo práctico, por esto se pensó en estandarizar los reactivos empleados, así como en determinar su estabilidad a fin de proporcionar al laboratorio sencillez y reproducibilidad.

Por estandarización se entiende uniformizar un grupo de objetos o lograr que las características de estos, queden dentro de ciertos límites previamente establecidos.

Para lograr la estandarización, es necesario fijar un valor de referencia, con el cuál efectuar la comparación, pero al tratarse de la medición de actividad enzimática, esto se complica. Es posible conseguir pesar una cantidad dada de una enzima definida y cristalizada, pero esto no nos garantiza que la medición de la actividad enzimática, sea correcta. Por lo que el material de referencia será tratado de la misma manera que las muestras. Esto se hace para seleccionar apropiadamente los materiales de referencia.

La estandarización se lleva a cabo, para incrementar la seguridad y reproducibilidad de las valoraciones, para alcanzar un máximo valor diagnóstico y poder comparar los resultados de laboratorio a laboratorio.

En el laboratorio Sigma de México S.A. se inició un estudio de los reactivos para diagnóstico a fin de determinar nuevas normas de control de calidad.

Se escogieron los siguientes reactivos para su estudio:

Equipo para determinación de Amilasa, Lipasa, Deshidrogenasa - láctica, Aminotransferasa de Alanina y Aminotransferasa de Asparato.

OBJETIVO

Establecer métodos adecuados de control de calidad, que nos garanticen la exactitud y reproducibilidad de los resultados aún cuando se utilicen reactivos de diferentes lotes, así - como demostrar la estabilidad de dichos reactivos.

CAPITULO I

FUNDAMENTOS E IMPORTANCIA CLINICA.

1.1. Determinación de Amilasa.

La enzima conocida como α -amilasa es la α -1,4-glucan-4 glucanohidrolasa.

E.C. 3.2.1.1

1.1.1. Fundamento.

La α -amilasa pertenece a la clase de enzimas designadas hidrolasas. Estas enzimas se caracterizan por su capacidad para catalizar la escisión hidrolítica de diversos enlaces químicos. Las α -amilasas animales, entre las cuales se encuentra la del suero humano, son amilasas alfa y pueden atacar enlaces alfa 1-4 al azar. Así las grandes unidades de polisacáridos se rompen en unidades menores.

Las cadenas de almidones lineales, reaccionan con yodo molecular para formar el complejo de yodo y almidón, de color azul intenso. Así la hidrólisis del almidón se mide colorimétricamente ya que es paralela a la pérdida de la capacidad del almidón para enlazar yodo, y el matiz del complejo cambia a azul claro, violeta y finalmente a rojo.

No se forma color con yodo, cuando el tamaño de la cadena es de seis unidades de glucosa o menos.

En el laboratorio Sigma de México S.A., se utiliza el método de Caraway, que mide la cantidad de almidón hidrolizado, en un periodo de tiempo.

La enzima es muy estable; su pérdida de actividad a temperatura ambiente es despreciable en el curso de una semana y si se conserva en refrigeración mantiene su actividad hasta dos meses.

Con excepción de la heparina, todos los anticoagulantes inhiben la actividad de la enzima, por lo que la determinación se debe efectuar en suero.

1.1.2. Importancia clínica.

En pacientes con pancreatitis aguda, la amilasa en suero alcanza valores de más de 500 unidades de Somogyi y a veces niveles de 2000 y 4000 unidades. El ascenso es transitorio y aumenta durante las primeras 24 a 30 horas, para bajar de nuevo al intervalo normal en las 24 a 48 horas siguientes. También se observa hiperamilasemia en pacientes con úlceras gástricas o duodenales perforadas obstrucción intestinal y obstrucción del conducto pancreático ó biliar común. En general, todo proceso de enfermedad agudo, en áreas adyacentes al páncreas podría dar por resultado elevaciones de amilasa en suero.

En pancreatitis crónica los valores van desde niveles normales hasta aproximadamente 250 a 400 unidades. El carcinoma pancreático solo en ocasiones va acompañado de una elevación de amilasa. La inyección de morfina causa un ascenso transitorio de la amilasa. Las paperas y parotiditis bacteriana, que bloquean la secreción de amilasa salival, se acompañan de leves elevaciones de amilasa en suero. Se pueden encontrar niveles en el intervalo bajo e incluso inferiores en pacientes con hepatitis y con ictericia obstructiva, tumores de hígado y abscesos hepáticos. En la pancreatitis, aumenta la eliminación de amilasa urinaria y la hiperamilasuria - puede persistir durante tres a cinco días, mucho después de haber llegado a niveles normales de amilasa en suero. La eliminación me menoscabada de orina, como resultado de enfermedad renal, puede - reflejarse en una elevación de niveles en suero.

1.1.3. Valores de referencia.

En general se acepta que los niveles de amilasa en suero de una persona aparentemente sana son de 50 a 150 unidades Somogyi por - decilitro, con el límite inferior establecido por algunos investi gadores, entre 30 y 40 unidades y el límite superior a valores -- que varían entre 120 y 160 unidades.

1.1.4. Calibración

La unidad de amilasa se define como la cantidad de enzima que hidroliza 10 mg de almidón en 30 minutos, a un punto en el cual el yodo no da ningún color.

1.2. Determinación de lipasa.

La enzima conocida comunmente como lipasa es Glicerol éster hidrolasa.

E.C.3.1.1.3.

1.2.1 Fundamento.

Se definen las lipasas como las enzimas de un grupo caracterizado porque sus miembros hidrolizan los ésteres de glicerol con ácidos grasos de cadena larga. .

El método aquí descrito, conserva la especificidad del método de Cherry y Crandall, a base de una emulsión de aceite de oliva. Las estearasas y otras enzimas se inhiben por la presencia de sales - en el sustrato y por un valor de pH más elevado.

El método se basa en la disminución de la turbidez de una emulsión muy diluída de aceite de oliva que se mide fotométricamente. La pérdida de la turbidez es proporcional a la concentración de lipasa en el suero.

1.2.2. Importancia clínica.

En general los valores de lipasa guardan paralelismo con los de - amilasa. Se observan elevaciones en pancreatitis aguda y obstrucción del conducto pancreático. Los valores elevados suelen persistir más que las elevaciones de amilasa (7 ó 10 días). En ocasiones se encuentran valores elevados en pacientes con úlceras en ílio y duodeno.

Hay niveles elevados en 50 a 60 por 100 pacientes con carcinoma - en el páncreas y en algunos con pancreatitis crónica. La administración de opiáceos y morfina, puede causar un ascenso en niveles de lipasa a causa de los espasmos en musculatura duodenal y del esfínter de Oddi.

La lipasa es depurada por los riñones y la orina puede contener - hasta 0.7 unidad/ml. Se pueden hallar aumentos apreciables de li-

pasa urinaria en casos de pancreatitis aguda o de obstrucción del conducto pancreático. Si está menoscabada la depuración renal -- pueden aumentar significativamente los niveles de lipasa en suero.

1.2.3. Valores de referencia.

La mayoría de los sueros de personas aparentemente sanas no dan reacción alguna con este procedimiento. Algunos sueros tienen una reacción leve de una unidad y se consideran normales.

1.2.4. Calibración.

No se requiere de patrón para calibración en este equipo, aunque se puede usar un suero control, con valor de lipasa elevado.

1.3. Determinación de deshidrogenasa láctica.

La enzima llamada deshidrogenasa láctica es Lactato NAD-oxidoreductasa.

E.C. 1.1.1.27

1.3.1. Fundamento.

La deshidrogenasa de lactato es una enzima de transferencia de hidrógeno, que cataliza la oxidación de L-lactato a piruvato con mediación de NAD como aceptor de hidrógeno. La reacción es reversible y el equilibrio de reacción favorece la reacción inversa.

El método de Wroblewski se basa en la reacción de reducción de piruvato a lactato y se hace reaccionar con 2,4-dinitrofenilhidrazina para formar la fenilhidrazona correspondiente, la cuál tiene color pardo dorado a pH alcalino.

1.3.2. Importancia clínica.

Los infartos de miocardio van acompañados de elevaciones hasta de 2500 unidades. El ascenso en el nivel en suero comienza de 48 a 72 horas después de la aparición del dolor y el nivel sigue elevado de 10 a 14 días. Los valores son moderadamente elevados en fallo cardiaco y en pericarditis con congestión hepática. Los niveles estan moderada o señaladamente elevados en pacientes con choque grave y anoxia.

Se ven elevaciones de LDH en suero en aproximadamente un tercio de pacientes con enfermedad renal, pero no guardan correlación con otros parámetros. Se encuentran elevaciones en los niveles de LDH en orina en la mayoría de los casos de glomerulonefritis activa y necrosis tubular aguda y en la mayoría de pacientes con cáncer renal o de vejiga.

Se observan elevaciones de LDH en suero en un 50% de pacientes con carcinoma y los niveles son altos en casos de cáncer abdominal y pulmonar. Sin embargo las elevaciones asociadas con cáncer son de

demasiado erráticas para tener utilidad. También se encuentran elevaciones en leucemias, en especial las de tipo mielocítico. Se encuentran elevaciones importantes de LDH sérica en pacientes con anemia perniciosa no tratada, con niveles que llegan a ser tan elevados como 20 000 unidades. En otros tipos de anemias hemolíticas los niveles varían desde valores de referencia hasta 2000 unidades.

1.3.3. Valores de referencia.

El intervalo obtenido de sueros de pacientes aparentemente normales es de 200 a 500 unidades Wl/ml de suero.

La unidad de actividad está definida como la cantidad de enzima que causa un cambio de absorción de 0.001 por minuto, si está presente en un volumen total de 3 ml y se mide en una cubeta con un recorrido de luz de 1 cm.

1.3.4. Notas.

Estabilidad de la enzima:

El almacenamiento del suero a la temperatura de 4°C por periodo hasta de 5 días o a la temperatura ambiente por 24 horas, no reducen significativamente la actividad de la enzima. La congelación de la muestra, prolonga considerablemente la actividad de la enzima.

Sueros hemolizados:

La deshidrogenasa láctica se encuentra en los glóbulos rojos, en concentración mayor que en el suero. Por lo tanto es importante evitar la hemólisis al obtener la muestra.

1.4. Determinación de Aminotransferasa de Alanina y Aminotransferasa de aspartato.

La aminotransferasa de aspartato (ASAT)

L-aspartato: 2-oxoglutarato aminotransferasa.

E.C. 2.6.1.1.

Aminotransferasa de alanina (ALAT)

L-alanina: 2-oxoglutarato aminotransferasa.

E.C. 2.6.1.2.

1.4.1. Fundamento.

Las aminotransferasas, constituyen un grupo de enzimas que catalizan la interconversión de aminoácidos y -cetoácidos, por la transferencia de grupos amino. El ácido L-glutámico actúa como el donador en la mayoría de las reacciones de transaminación. Los cetoácidos se determinan colorimétricamente por copulación con 2,4-dinitrofenilhidrazina. Las hidrazonas, de los productos de las dos reacciones, la catalizada por ASAT y la catalizada por ALAT, son considerablemente más cromogénicas que la de alfa-cetoglutarato.

1.4.2. Importancia clínica.

Después de infarto de miocardio aparece ASAT en suero con actividad aumentada. Sin embargo los niveles en suero no empiezan a subir hasta 6 a 8 horas después de aparecer el dolor. Los valores más elevados se alcanzan después de 48 a 60 horas y el nivel baja hacia el cuarto o quinto día. Los valores son aproximadamente proporcionales al grado de daño sufrido por el tejido cardíaco. Los valores de ALAT están solo ligeramente elevados.

En hepatitis y otras formas de enfermedad hepática, con necrosis hepática concomitante, estarán elevados los niveles de las dos aminotransferasa en el suero, aún antes de aparecer los síntomas

clínicos de la enfermedad. El cuadro en hepatitis tóxica es similar al observado en hepatitis infecciosa. Se ven elevaciones hasta de 500 unidades en mononucleosis infecciosa. En casos de cirrosis, los niveles observados varían con la actividad del proceso cirrótico, con el nivel de ASAT más alto que el de ALAT. En caso de ictericia obstructiva, el nivel de ALAT es más alto que el de ASAT. Los niveles de ASAT aumentan algo, en distrofia muscular y dermatomiositis, y llegan a ser de 150 a 200 unidades. Embolias pulmonares pueden producir ascenso de niveles de ASAT y se ven elevaciones de ligeras a moderadas, en pancreatitis aguda, magullamiento muscular y metástasis hepática.

1.4.3. Valores de referencia.

Los valores de referencia establecidos para este método son de 8 a 40 unidades para ASAT en suero y de 5 a 35 unidades para ALAT en suero.

1.4.4. Aclaraciones.

Una unidad representa la formación de material cromogénico equivalente a una gamma de piruvato bajo las condiciones del método.

Sueros hemolisados:

La aminotransferasa de aspartato se encuentra en los glóbulos rojos en concentraciones mayores que en el suero. Por lo tanto es importante evitar la hemólisis de la muestra.

Estabilidad de la enzima:

El almacenamiento del suero a la temperatura de 4°C por periodo hasta de 5 días ó a la temperatura ambiente por 24 horas, no reduce significativamente la actividad de la enzima.

CAPITULO II

REACTIVOS ANALIZADOS.

EQUIPO PARA DETERMINACION DE AMILASA.

EQUIPO PARA DETERMINACION DE LIPASA.

EQUIPO PARA DETERMINACION DE LDH.

EQUIPO PARA DETERMINACION DE TRANSAMINASA GLUTAMICO PIRUVICA
Y TRANSAMINASA GLUTAMICO OXALACETICA.

2.1. COMPONENTES DEL EQUIPO PARA DETERMINACION DE AMILASA.

1) Solución amortiguadora-sustrato de almidón

Componentes:

Fosfato de sodio dibásico	17.3 g
Fosfato de potasio monobásico	10.2 g
Cloruro de sodio	1.46g
Almidón soluble Litner	6.6 g
Agua destilada a	1000 ml
Inhibidor de hongos	1 ml

Preparación:

En aproximadamente 600 ml de agua destilada, disolver los fosfatos, con agitación mecánica y calentamiento ligero (50°C), agregar el cloruro de sodio y filtrar.

Aparte, en 100 ml de agua hirviendo añadir el almidón mezclado -- con 30 ml de agua fría y agitar durante 30 seg. se enfría y se mezcla con la solución de fosfatos, se agrega el inhibidor de hongos y se lleva el volumen a 1000 ml verificando que la temperatura de la solución sea de 25°C.

2) Reactivo de yodo 0.01 N

Componentes:

Yodo	1.3 g
Yoduro de potasio	10 g
Agua destilada a	1000 ml

Preparación:

En un mortero, pulverizar el yodo y el yoduro, agregando agua poco a poco, transferir a un matraz de 1000 ml, agregar agua hasta la marca y estandarizar.

2.2. COMPONENTES DEL EQUIPO PARA DETERMINACION DE LIPASA.**1) Aceite de oliva al 1%.****Reactivos:**

Aceite de oliva purificado 10 ml
 Alcohol etílico absoluto 900 ml
 Alcohol metílico absoluto. 50 ml
 Alcohol isopropílico anhidro 40 ml

Preparación;

En un matraz aforado de un litro, se colocan en el siguiente orden los reactivos: 800 ml de alcohol etílico, 50 ml de metanol, el alcohol isopropílico y el aceite de oliva, mezclar perfectamente y añadir el resto del etanol a la marca, mezclar y estandarizar.

Nota:

El aceite de oliva se purifica de la siguiente manera:
 a 100 ml de aceite de oliva, se agregan 25 g de alúmina grado cromatográfico y se agita mecánicamente durante 8 horas, se deja reposar durante 48 horas y se filtra con papel de poro pequeño, regresando el filtrado hasta que el aceite esté transparente.

2) Líquido diluyente amortiguador pH 9.1 a 38°C**Reactivos:**

Trishidroximetilaminometano 24 g
 Acido clorhídrico Normal. 100ml
 Desoxicolato sódico 0.244 g
 Cloroformo. 2 ml
 Agua destilada a 1000 ml

Preparación:

En 800 ml de agua destilada disolver con agitación mecánica y calor moderado el TRIS, agregar cuidadosamente el desoxicolato de sodio y agitar, una vez que se han disuelto las sales se agrega el ácido clorhídrico Normal y se agrega agua hasta un volumen de 900 ml, se agrega el cloroformo y se agita a la máxima velocidad del magneto durante 5 a 6 horas, o el tiempo necesario para que el cloroformo se haya incorporado perfectamente a la solución, ajustar el volumen a 1000 ml y estandarizar.

2.3. COMPONENTES DEL EQUIPO PARA DETERMINACION DE DESHIDROGENASA LACTICA.

- 1) Desarrollador de color, solución de 2,4-dinitrofenilhidrazina
1 Vial de 16 ml

Reactivos:

2,4-Dinitrofenilhidrazina 0.278 g
Acido clorhídrico conc. 80 ml
Agua destilada a 1000 ml

Preparación:

En un mortero pulverice la 2,4-dinitrofenilhidrazina con pequeñas porciones de ácido clorhídrico, con cuidado transfiera a un matraz de un litro, enjuagando el mortero con agua destilada varias veces agregue agua hasta tener un volumen de un litro y estandarizar.

- 2) Sustrato de piruvato

1 Vial de 16 ml

Reactivos:

Fosfato de potasio dibásico 13.95 g
Fosfato de potasio monobásico 2.70 g
Acido pirúvico. 1.8 ml
Inhibidor de hongos 1 ml
Agua destilada a 1000 ml

- 3) Dinucleótido de la dihidronicotinamida adenina.
10 viales con 1 mg

Reactivos:

Fosfato de sodio dibásico 12.6 g
Fosfato de potasio monobásico . . . 2.9 g
NADH sal sódica 1.0 g
Agua destilada 1000 ml

Preparación:

En 800 ml de agua destilada, disolver los fosfatos, agregar la sal sódica de dihidronicotinamida adenina y mezclar, agregar agua suficiente para tener un volumen de un litro, estandarizar.

Colocar frascos viales, un mililitro de la solución en cada vial liofilizar y sellar.

- 4) Hidróxido de sodio 0.4 Normal

Reactivos:

Hidróxido de sodio 16 g
Agua destilada a 1000 ml

Preparación:

en 500 ml de agua destilada disolver el hidróxido de sodio, por agitación, enfriar a 25°C y filtrar, agregar agua a 1000ml y estandarizar.

2.4. COMPONENTES DEL EQUIPO PARA DETERMINACION DE TRANSAMINASA
GLUTAMICO PIRUVICA Y GLUTAMICO OXALACETICA.

- 1) Sustrato acido aspártico-acido alfacetoglutárico.
1 frasco 100 ml.

Reactivos:

Acido alfa-cetoglutárico14.6 g

Acido L-aspártico	50 g
Fosfato de potasio diácido	13.6 g
Hidróxido de sodio	33 g
Agua destilada	1000 ml
Inhibidor de hongos	1 ml

Preparación:

En 600 ml de agua destilada disolver el fosfato y el hidróxido de sodio, agregar el ácido L-aspártico y el alfacetoglutárico y agitar hasta que se disuelvan, añadir el inhibidor de hongos y filtrar, añadir agua destilada hasta 1000 ml y estandarizar.

2) Desarrollador de color, solución 2,4 dinitrofenilhidrazina.

1 Frasco de 100 ml.

Reactivos:

2,4 Dinitrofenilhidrazina	0.2 g
Ácido clorhídrico concentrado	75 ml
Agua destilada a	1000 ml

Preparación:

En un mortero pulverice la 2,4 dinitrofenilhidrazina con 10 ml de ácido clorhídrico, transfiera a un matraz de un litro, lavando el mortero con agua destilada y pasando los lavados al matraz, agregar agua hasta 1000 ml y estandarizar.

3) Sustrato alanina-acido alfacetoglutárico.

1 frasco de 100 ml.

Reactivos:

L-Alanina	44.5 g
Acido alfacetoglutárico	14.6 g
Fosfato de potasio monobásico	13.6 g
Hidróxido de sodio	33 g
agua destilada	1000 ml
Inhibidor de hongos	1 ml

Preparación:

En 500 ml de agua destilada, disolver el hidróxido de sodio, añadir el fosfato, la L-alanina y el ácido alfacetoglutarico, dejar enfriar a temperatura ambiente y filtrar, añadir el inhibidor de hongos y llevar el volumen a 1000 ml y estandarizar.

4) Acido pirúvico 0.0015 M

1 frasco de 10 ml

Reactivos

Acido benzoico 1.25g
Piruvato sódico. 0.165g
agua destilada 1000ml

Preparación:

En 500 ml de agua hirviendo disolver el acido benzoico, una vez disuelto. agregar 400 ml de agua destilada y filtrar, dejar que alcance la temperatura ambiente y pesar en balanza analitica el piruvato, pasar a un matraz volumétrico y agregar la solución del ácido benzoico, aforar con agua destilada a un litro y estandarizar

5) Hidróxido de sodio 0.4 Normal**Reactivos:**

Hidróxido de sodio 16 g
Agua destilada 1000 ml

Preparación:

La misma que para el inciso 4 de 4.3.

CAPITULO III

CONTROL DE CALIDAD.

3.1. Equipo para determinación de amilasa.

3.1.1. Determinaciones para el sustrato.

Se verifica el pH del sustrato debido a que afecta directamente la velocidad de una reacción enzimática, por lo que se escogió un pH al cuál la velocidad de reacción es óptima para esta reacción. Se determina la concentración de almidón porque el almidón es el sustrato sobre el cuál va a actuar la amilasa, y su actividad enzimática se mide por la disminución de la capacidad del almidón para formar complejo con el yodo molecular.

3.1.2. Determinaciones para el reactivo de yodo 0.01 N.

Se determina la normalidad exacta de la solución y en caso necesario se ajusta a 0.01 , para asegurar que la formación del complejo de almidón-yodo se lleve a cabo.

3.1.3. Estabilidad del equipo:

Para asegurar que los reactivos pueden evaluar la cantidad de amilasa en un suero, se efectúa la determinación de amilasa en un suero Enza-trol, los valores obtenidos deberán ser iguales al valor principal para cada lote específico de Enza-trol.

Todas las determinaciones se hicieron cada tres meses, durante un año, para demostrar que en ese periodo de tiempo, los reactivos correctamente almacenados no sufrieron alteración en su capacidad reactiva.

3.2. Equipo para determinación de lipasa.

3.2.1. Control de calidad del aceite de oliva al 1%

Se determina la transmisión de la solución ya que ésta debe ser de 95 a 100% para que no interfiera la turbidez de ésta, con el método de medición que es turbidimétrico, y para comprobar que la solución es estable.

3.2.2. Control de calidad para el líquido diluyente amortiguador.

Se determina y ajusta el pH para asegurar que la reacción sea llevada a cabo en condiciones óptimas, en este caso además se asegura la inhibición de esterasas y otras enzimas que podrían interferir con la reacción.

3.2.3. Estabilidad del equipo.

Para determinar la capacidad del equipo para reaccionar y la estabilidad del mismo se hizo la determinación en suero Monitrol cada tres meses durante un periodo de un año.

3.3. Equipo para determinación de Deshidrogenasa láctica.

3.3.1. Determinaciones para el desarrollador de color, 2,4-dinitrofenilhidrazina.

Se determina la concentración espectrofotométricamente para asegurarnos de que es la concentración adecuada para la total o casi total formación de la hidrazona correspondiente.

3.3.2. Determinaciones para el sustrato de ácido pirúvico.

Se determina el pH ya que es un factor importante en toda reacción enzimática, por lo que debe ser controlado.

Se determina la concentración de ácido pirúvico para asegurar la presencia de sustrato en la cantidad adecuada.

3.3.3. Control para el NADH.

Se determina el pH por la importancia que tiene este parámetro en toda reacción enzimática.

Se determina la concentración espectrofotométricamente para asegurar la presencia de aceptor de hidrógeno en cantidad suficiente para efectuar la reacción.

3.3.4. Control para el hidroxido de sodio 0.4 Normal.

Se determina la normalidad de la solución y se ajusta a 0.400 exactamente, para evitar posibles variaciones en la intensidad de color, producidas por una variación en la concentración de este reactivo.

3.3.5. Determinación de la estabilidad del equipo.

Se hace la curva de calibración y la determinación de la enzima en suero control, cada tres meses durante un periodo de un año para comprobar que los reactivos no han sufrido alteraciones y pueden ser usados durante ese tiempo sin perder su capacidad de reaccionar.

3.4. Equipo para la determinación de Aminotransferasa de alanina y Aminitransferasa de aspartato.

3.4.1. Sustrato de ácido aspártico-ácido alfacetoglutárico.

Se determina el pH para que la reacción enzimática se realice en condiciones óptimas para este parámetro.

Se determina colorimétricamente la presencia del sustrato para controlar la concentración de éste durante la reacción.

3.4.2. Reactivo de color 2,4 dinitrofenilhidrazina.

Se determina la concentración colorimétricamente, para asegurar que la formación de la fenilhidrazona correspondiente sea total o casi completa.

3.4.3. Sustrato de alanina-ácido alfacetoglutárico.

Se verifica el pH, debido a que es un factor muy importante para llevar a cabo la reacción enzimática.

La determinación de la concentración se efectúa para que el sustrato se encuentre en la cantidad necesaria.

3.4.4. Control de calidad para el ácido pirúvico 0.0015 M.

Se realiza la identificación que asegura la presencia del conservador.

La valoración es efectuada porque se trata del patrón para elaborar la curva de calibración, aunque es un patrón primario, se elimina así un posible error del analista al pesar, o la disminución de la pureza del reactivo.

3.4.5. Hidróxido de sodio 0.4 N

Se determina la normalidad para evitar cambios en la formación del color, debidos a variación en la concentración de esta solución.

3.4.6. Estabilidad del equipo.

Se realiza la curva patrón y se determina la concentración de la enzima en un suero control cada tres meses, durante un año, para comprobar que el equipo conserva su capacidad reactiva en ese -- periodo de tiempo.

CAPITULO IV

METODOS DE CONTROL DE CALIDAD.

4.1. Equipo para determinación de amilasa.

4.1.1. Determinaciones para el sustrato.

a) Verificación del pH.

Material y equipo:

Solución amortiguadora pH 4.01 a 25° C.

Solución amortiguadora pH 7.00 a 25°C.

Hidróxido de sodio Normal.

Acido clorhídrico Normal.

Vasos de precipitados de 50 ml.

Pipetas serológicas de 10 ml.

Termómetro de -10 a 110 °C.

Potenciómetro digital Corning, modelo 135, con 3 decimales.

Método:

Ajustar el potenciómetro, con las soluciones amortiguadoras de referencia. Enjuagar los electrodos con agua destilada al cambiar de solución. Una vez calibrado el aparato, tomar 50 ml de muestra e introducir los electrodos en el vaso y dejar que se establezca la lectura.

El pH del sustrato deberá ser de 7.00 ± 0.05 a 25°C.

Si el pH del sustrato no se encuentra en estos límites, se adiciona hidróxido de sodio o ácido clorhídrico según se necesite.

b) Concentración de almidón.

Material y equipo:

Agua destilada.

Reactivo de yodo 0.01 N.

Matraces aforados de 50 ml.

Pipetas volumétricas de 5 ml.

Celdas para espectrofotómetro de 19x105 mm.

Espectrofotómetro Coleman Junior II.

Método:

Pipetear en matraz aforado de 50 ml, 5 ml de sustrato de almidón

Añadir inmediatamente 5 ml de reactivo de yodo 0.01 N.

Aforar con agua destilada y leer a 660 nm utilizando un blanco de agua destilada para ajustar el aparato.

La absorción deberá ser de 0.43 a 0.49.

Si la absorción no se encuentra en dichos límites, ajustar por medio de la adición de agua destilada o con solución concentrada de almidón.

4.1.2. Determinaciones para el reactivo de yodo 0.01 N.**a) Determinación de la normalidad.****Material y equipo:**

Solución valorada de tiosulfato de sodio 0.01 N

Solución indicadora de almidón.

Agua destilada.

Pipeta volumétrica de 20 ml.

Matraces erlermeyer de 250 ml.

Bureta de 50 ml.

Método:

Pipetear en un matraz de 250 ml, 20 ml del reactivo de yodo 0.01N titular con la solución de tiosulfato, agregando el almidón cerca del punto de equivalencia. Deberán gastarse 20.0 ml de tiosulfato.

4.1.3. Estabilidad del equipo.**a) Determinación de amilasa en un lote de Enza-trol.****Material y equipo:**

El mismo del inciso b) de 4.1.1.

Método:

Pipetear en un matraz aforado de 50 ml, 5 ml de sustrato, incubar 10 minutos a 37°C.

Pipetear exactamente 0.1 ml del suero control, al fondo del matraz mezclar e incubar 7 minutos 30 segundos exactamente.

Evite contaminar la mestra con saliva.

Retire el matraz del baño y añada 5 ml de yodo 0.01 N.

Diluya a 50 ml con agua destilada, mezclar por inversión.

Medir la absorción de la muestra a 660 nm usando un blanco de agua para ajustar el aparato.

Los valores obtenidos, deberán ser iguales al valor principal de actividad de amilasa para el lote específico de Enza-trol utilizado.

Los cálculos se realizan de la siguiente forma:

$$\frac{E. \text{ del control} - E. \text{ de la prueba}}{E. \text{ del control}} \times 800 = U \text{ Amilasa/dl}$$

E. del control

E= Extinción, absorción.

En donde la E. del control, representa los 40 mg iniciales de almidón, por lo tanto E. del control - E. de la prueba, representan los mg de almidón hidrolizados por la enzima en 0.5 ml de suero. Así tenemos que

$$\frac{E.c. - E.p}{E.c.} \times 40 \times \frac{1}{10} \times \frac{100}{0.5} = 800 \times \frac{E.c. - E.p}{E.c.}$$

La unidad de amilasa fué definida por Caraway, como la cantidad - de enzima que hidroliza 10 mg de almidón en 30 minutos, a un punto en el cuál el yodo no produce color.

4.2. Equipo para determinación de lipasa.

4.2.1. Control de calidad del aceite de oliva al 1%.

a) Determinación de la transmisión.

Material y equipo:

Agua destilada.

Papel absorbente.

Pipeta graduada 5 ml.

Celdas de 12 x 75 mm.

Espectrofotómetro Coleman Junior II.

Método:

Colocar en una cubeta una muestra del reactivo por analizar, en otra cubeta colocar agua destilada.

Ajustar el aparato a 100% de Transmisión con el agua destilada a 400 nm.

Leer la transmisión del aceite de oliva al 1%.

El resultado deberá ser de 95 a 100% de Transmisión a 400 nm.

Si el resultado no está dentro de estos límites, el reactivo debe rá ser rechazado.

4.2.2. Control de calidad para el líquido diluyente amortiguador.

a) Determinación del pH a 38°C.

Material y equipo:

Solución amortiguada pH 7.00 a 25°C

Hidróxido de sodio Normal.

Acido clorhídrico Normal.

Vasos de precipitados de 50 ml.

Pipetas graduadas de 10 ml.

Termómetro de -10 a 110 °C.

Potenciómetro digital Corning, modelo 135.

Método:

Calentar una muestra del amortiguador de referencia a 38°C.

Ajustar la temperatura en el potenciómetro a 38°C.

Colocar los electrodos dentro del amortiguador y esperar que la lectura se estabilice.

El pH deberá ser de 9.1 ± 0.05 a 38 °C.

Ajustar con ácido clorhídrico Normal o con hidróxido de sodio Normal en caso necesario.

4.2.3. Determinación de la estabilidad del equipo.

a) Determinación de la enzima en suero Monitrol.

Material y equipo:

Matraz erlemeyer de 50 ml.

Pipetas graduadas de 1 y 5 ml.

Celdas para espectrofotómetro de 19x105 mm.

Agitador magnético.

Espectrofotómetro Coleman Junior II.

Método:

Preparación del sustrato:

Poner 25 ml de líquido diluyente amortiguador en un matraz erlemeyer de 50 ml. Agregar gota a gota 1 ml de solución de aceite de oliva al 1% agitando constantemente con el agitador magnético.

Diluir 0.2 ml de suero con 0.8 ml de líquido diluyente amortiguador. Poner 4 ml del sustrato en un tubo de ensaye. Colocarlo en baño de agua a 38°C durante 5 minutos. Sacar el tubo del Baño y agregar 0.2 ml de suero diluido. Mezclar por inversión. Leer la Extinción inmediatamente en un aparato ajustado a cero con el líquido diluyente amortiguador.

Volver a poner el tubo en el baño de agua a 38°C durante 20 minutos exactamente.

Sacar el tubo del baño y leer inmediatamente la extinción.

Cálculos:

$$\frac{\text{Lectura inicial} - \text{segunda lectura}}{\text{Lectura inicial}} \times 25 = \text{Unidades de lipasa}$$

En donde:

la lectura inicial- segunda lectura representa la cantidad de aceite de oliva hidrolizado.

Si tomamos en cuenta que del suero se tomaron 0.04 ml. tenemos

$$\frac{E_1 - E_2}{E_1} \times \frac{1}{100} \times \frac{100}{0.04} = \frac{E_1 - E_2}{E_1} \times 25.$$

4.3. Equipo para determinación de deshidrogenasa láctica.

4.3.1. Determinaciones para el desarrollador de color, 2,4-dinitrofenilhidrazina.

a) Determinación espectrofotométrica de la concentración.

Material y equipo:

Agua destilada.

Pipetas volumétricas de 1 ml.

Matraces aforados de 100 ml.

Papel absorbente.

Celdas de 19 x 105 mm.

Espectrofotómetro Coleman Junior II.

Método:

Pipetear 1 ml del reactivo en un matraz aforado de 100 ml.

Llevar a la marca con agua destilada.

Ajustar el aparato a 100 % de Transmisión utilizando agua destilada como blanco.

Leer la transmisión a 360 nm.

La lectura deberá ser de 70 a 74% de Transmisión.

4.3.2. Determinaciones para el sustrato de ácido pirúvico.

a) Determinación del pH.

Se utiliza el método descrito para el inciso a) de 4.1.1.

El pH de la solución deberá ser de 7.6 ± 0.1 a 25 °C.

b) Determinación de la concentración de ácido pirúvico.

Material y equipo:

Agua destilada

Reactivo de 2,4 dinitrofenilhidrazina aprobado.

Hidróxido de sodio 0.4 Normal.

Pipetas graduadas de 1 ml.
Pipetas graduadas de 10 ml.
Cubetas de 19 x 105 mm.
Cronómetro.
Espectrofotómetro Coleman Junior II.

Método:

Pipetear 1 ml del sustrato de ácido pirúvico en un tubo.
Agregar 0.1 ml de agua destilada.
Añadir 1.0 ml de reactivo de 2,4 dinitrofenilhidrazina, mezclar y dejar reposar 15 minutos a temperatura ambiente.
Agregar 10 ml de hidróxido de sodio 0.4 N, mezclar y dejar en reposo 20 min. a temperatura ambiente.
Leer a 550 nm, ajustando el aparato con un blanco de agua destilada.
La lectura deberá ser de 13 % de Transmisión.

4.3.3. Control de calidad para el dinucleótido de la dihidronicotinamida-adenina.

A) Determinación del pH

Material y equipo:

Agua destilada.
Solución amortiguadora pH 7.00 a 25°C.
Vasos de precipitados de 50 ml.
Termómetro de -10 a 110 °C.
Potenciómetro digital corning modelo 135.

Método:

Reconstituir el DPNH, agregando 10 ml de agua destilada al contenido de un vial.
Ajustar el aparato a pH 7.00 a 25°C.
Enjuagar el aparato con agua destilada.

Colocar la muestra y dejar que la lectura se estabilice. El
pH de la solución deberá ser de 7.0 ± 0.1 a 25°C .

b) determinación espectrofotométrica.

Material y equipo:

Agua destilada.

Pipeta graduada de 10 ml.

1 vial de DPNH por analizar.

Celdas de 12 x 75 mm.

Espectrofotómetro Coleman Junior II.

Método:

Reconstituir el NADH, agregando 10 ml de agua destilada y agitando

Ajustar el aparato a 0.0 de absorción utilizando agua destilada.

Leer la absorción a 259 y a 340 nm.

Los resultados deberán ser de 0.14 a 259 nm.

Y de 0.62 a 340 nm.

En caso de que la lectura no sea la indicada, el reactivo se dese
cha.

4.3.4. Control de calidad para el hidróxido de sodio 0.4 Normal.

A) Determinación de la normalidad.

Material y equipo:

Agua destilada.

Fenolftaleína al 1%

Matraces erlenmeyer de 250 ml.

Bureta de 50 ml con soporte.

Biftalato de potasio R.A.

Balanza analítica Mettler.

Horno con rango de temperatura de 50 a 500°C .

Desecador, con sílica gel.

Pesafiltros.

Método:

Secar el biftalato de potasio a 105 °C durante una hora. Enfriar en el desecador.

Pesar exactamente 2.0422 g de biftalato de potasio y vaciar cuantitativamente en un matraz erlenmeyer de 250 ml.

Disolver en 30 ml de agua destilada, añadir una gota de la solución de fenoltaleína y titular con la solución de hidróxido de sodio hasta la aparición de color rosa que permanezca un minuto. Deberán gastarse 25.0 ml de la solución para que esta sea 0.4 N. Ajustar la solución a 0.4000.

4.3.5. Determinación de la estabilidad del equipo.

a) Determinación de la concentración de la enzima en un suero Monitrol con 576 U/ ml.

El equipo se mantuvo en refrigeración durante el tiempo que no se empleó.

Método:**Curva de calibración:**

A los siguientes tubos marcados, agregar las cantidades que se indican.

Número	Sustrato Piruvato	Agua destilada.	Equivalente a unidades de DLH/ml
1	1.0 ml	0.1 ml	0
2	0.8 ml	0.3 ml	280
3	0.6 ml	0.5 ml	640
4	0.4 ml	0.7 ml	1040
5	0.2 ml	0.9 ml	1530
6	0.1 ml	1.0 ml	2000

Agregar a cada tubo 1.0 ml de desarrollador de color. Mezclar y dejar reposar 20 minutos a temperatura ambiente.

Transcurridos los 20 minutos, agregar 10 ml de Hidróxido de sodio 0.4 N a cada tubo. Mezclar bien y dejar reposar a temperatura ambiente durante 15 minutos.

Leer todos los tubos en secuencia usando un blanco de agua destilada, fijando la absorción a cero, o a 100% de Transmisión a 550 nm. Graficar.

Determinación de la enzima en un suero Monitor.

Diluir 0.1 ml de suero con 0.5 ml de agua destilada.

Pipetear exactamente 1.0 ml del sustrato de piruvato en el vial de NADH_2 . Colocar el vial en un baño de agua a 37°C durante 5 - minutos. Agregar 0.1 ml de suero diluido al vial de prueba. Tapar y regresar al baño a 37°C .

Exactamente 30 minutos después, agregar 1.0 ml de desarrollador de color, mezclar y dejar reposar 20 minutos a temperatura de 25° . Agregar 10 ml de hidróxido de sodio 0.4 N. mezclar y dejar reposar 15 minutos a temperatura ambiente.

Transferir el contenido del vial a una cubeta y leer en el colorímetro a 550 nm.

Obtener las unidades de DHL por mililitro de suero, leyendo directamente de la curva patrón.

Todos los reactivos deberán estar a la temperatura ambiente. Esta temperatura la deberán alcanzar por sí solos.

5.4. Equipo para la determinación de aminotransferasas.

5.4.1. Determinaciones para el sustrato de ácido aspártico-ácido- alfacetoglutárico.

a) Determinación del pH.

Se utiliza el método descrito en el inciso a) de 4.1.1.

El pH deberá ser de 7.40 ± 0.05 a 25°C .

b) Determinación colorimétrica de la concentración.

Material y equipo:

Agua destilada.

Patrón de ácido pirúvico.

Hidróxido de sodio 0.4 N.

Pipetas serológicas de 1 ml.

Pipetas serológicas de 10 ml.

Tubos de 19 x 150 mm.

Cronómetro.

Celdas de 19 x 105 mm.

Espectrofotómetro Coleman Junior II.

Método:

Preparar dos tubos de la siguiente forma.

Tubo N°.	Agua dest.	Sust.ac.aspartico-ac. alfacetoglutárico.	ac. pirúvico.
1	0.2 ml	1.0 ml	0.0 ml
2	0.2 ml	0.6 ml	0.4 ml

Añada a cada tubo 1 ml de reactivo de 2,4-dinitrofenilhidrazina, agitar y dejar reposar a temperatura ambiente 10 minutos.

Agregar a cada tubo 10 ml de hidróxido de sodio 0.4 N, mezclar y dejar reposar 10 minutos a temperatura ambiente.

Leer la Transmisión a 505 nm, ajustando con agua destilada a 100%. La lectura deberá ser de 57- 58%T para el tubo N° 1, de 30.5 -31.5% de transmisión para el tubo N° 2.

5.4.2. Determinaciones para el reactivo de color, 2,4 dinitrofenil hidrazina.

a) Determinación colorimétrica de la concentración.

Material y equipo:

Agua destilada.

Pipetas volumétricas de 1 ml.

Matraces aforados de 100 ml.

Celdas de 19 x 105 mm.

Espectrofotómetro Coleman Junior II.

Método:

Pipetear 1 ml del reactivo por analizar, en un matraz volumétrico de 100 ml y aforar con agua destilada.

Leer en el espectrofotómetro, utilizando un blanco de agua destilada para ajustar el aparato.

La longitud de onda es de 360 nm y la lectura deberá ser de 78±1% de Transmisión.

5.4.3. Determinaciones para el sustrato de Alanina-ácido alfaceto-glutárico.

a) Verificación del pH.

Se utiliza el método descrito en el inciso a) de 4.1.1.

El pH deberá ser de 7.40 ± 0.05 a 25° C.

b) Determinación colorimétrica.

Material y equipo:

Agua destilada.

Patrón de ácido pirúvico 0.0015 M.
 Hidróxido de sodio 0.4 N
 Reactivo de 2,4-dinitrofenilhidrazina.
 Pipetas serológicas de 1 ml
 Pipetas serológicas de 10 ml.
 Cubetas de 19 x 105 mm.
 Cronómetro.
 Espectrofotómetro Coleman Junior II.

Método:

Prepare una serie de tubos de la siguiente forma:

Tubo N°.	Agua dest.	Sust. alanina-ac. ceto- glutárico.	ac.pirúvico 0.0015 M.
1	0.2 ml	1.0 ml	0.0 ml
2	0.2 ml	0.6 ml	0.4 ml

Añada a cada tubo 1.0 ml de 2,4-dinitrofenilhidrazina. Agite y de
 je reposar 20 minutos a temperatura ambiente.

Añada a cada tubo 10 ml de hidróxido de sodio 0.4 N mezcle y deje
 reposar 20 minutos a temperatura ambiente.

Leer a 505 nm usando agua destilada como blanco.

La lectura deberá de ser 57-58% de Transmisión para el tubo N° 1
 y de 30.5 a 31.5 % de Transmisión para el tubo N° 2.

5.4.4. Control de calidad para el ácido pirúvico 0.0015 M.

a) Identificación.

Material y equipo:

Agua destilada.

Reactivo de Tollens.

Reactivos de Fehling A y B.

Reactivo de Schiff.

Pipetas serológicas de 5 ml.

Tubos de 13 x 100 mm.

Gradilla.

Baño maría.

Método:

Mezclar en un tubo de ensayo, 2 ml de reactivo de Tollens con 0.5 ml del reactivo por analizar. Mezclar y observar.

La formación de un espejo de plata, significa reacción positiva.

En este caso la reacción deberá ser negativa.

Mezclar 1 ml de solución fehling A , con 1 ml de solución Fehling B, inmediatamente después añadir 1 ml del reactivo por analizar y colocar en baño maría durante un minuto. La formación de un precipitado rojo, indica reacción positiva.

El patrón de ácido pirúvico deberá dar reacción positiva.

En un tubo de ensayo, colocar 1 ml del reactivo de schiff, añadir 3 ó 4 gotas del reactivo en estudio, la aparición de un color rosa indica reacción positiva.

El reactivo de ácido pirúvico 0.0015 M produce reacción positiva.

b) Valoración.

Material y equipo:

Agua destilada.

Reactivo de 2,4 dinitrofenilhidrazina.

Hidróxido de sodio 0.4 N.

Pipetas graduadas de 10 ml.

Pipetas graduadas de 1 ml.

Tubos o cubetas de 19 x 105 mm.

Espectrofotómetro Coleman Junior II.

Método:

Pipetear en un tubo de ensayo 0.1 ml del reactivo de ácido pirúvi

co 0.0015 M. Agregar 1 ml de reactivo desarrollador de color 2,4 dinitrofenilhidrazina, agitar y dejar reposar 20 minutos a temperatura ambiente. Agragar 10 ml de hidróxido de sodio 0.4 N .Dejar reposar 10 min. a temp. ambiente y leer a 505 nm ajustando el apa rato, con agua destilada como blanco.

La lectura deberá ser de $40 \pm 1\%$ de Transmisión.

4.4.5. Control de calidad para el hidróxido de sodio 0.4 N,

a) Se determina la normalidad de la solución con el método descri to en el inciso a) de 4.3.4.

4.4.6. Determinación de la estabilidad del equipo.

a) determinación de las enzimas Aminotransferasa de aspartato y Aminotransferasa de alanina. En un suero Enza-trol.

El valor para la aminotransferasa de aspartato es de 18 unidades, y para la aminotransferasa de alanina es de 15 unidades.

Material y equipo:

Agua destilada.

Pipetas serológicas de 1 ml

Pipetas serológicas de 10 ml.

Tubos de 19 x 150 mm.

Celdas de 19 x 105 mm.

Papel absorbente.

Espectrofotómetro Coleman Junior II.

Método:

Preparar una serie de tubos de la manera siguiente:

Tubo N°.	Agua dest.	Sustrato ac. aspártico ac. alfa-cetoglutarico.	Ac. pirúvico 0.0015M	ASAT mU/ml
1	0.2 ml	1.0 ml	0.0 ml	0
2	0.2 ml	0.9 ml	0.1 ml	10
3	0.2 ml	0.8 ml	0.2 ml	26
4	0.2 ml	0.7 ml	0.3 ml	45
5	0.2 ml	0.6 ml	0.4 ml	72

Añada a cada tubo 1 ml de reactivo de 2,4-dinitrofenilhidrazina, - agitar y dejar reposar 10 minutos a temperatura ambiente.

Agregar a cada tubo 10 ml de hidróxido de sodio 0.4 N, mezclar y dejar reposar a temperatura ambiente 10 minutos.

Leer a 505 nm.

Determinación de Aminotransferasa de aspartato en suero:

Pipetear 1 ml del sustrato en un tubo de ensaye. Poner en baño de agua a 37°C durante 5 minutos.

Añadir 0.2 ml de suero, mezclar bien, incubar a 37°C durante una hora. Sacar el tubo del baño y añadir 1 ml de 2,4-dinitrofenilhidrazina, mezclar y dejar reposar 20 minutos a temperatura ambiente. Añadir 10 ml de hidróxido de sodio 0.4 N. Mezclar y dejar reposar 5 minutos a temperatura ambiente.

Leer a 505 nm ajustando el aparato con un blanco de agua.

Determinación de Aminotransferasa de alanina en suero:

En un tubo de ensaye pipetear 1 ml de sustrato alanina-acido alfa cetoglutarico. Colocarlo en baño de agua a 37°C 5 minutos. Añadir 0.2ml de suero, mezclar bien y regresar al baño durante 30 minutos retirar del baño y añadir 1 ml de reactivo desarrollador de color (2.4.dinitrofenilhidrazina). Dejar reposar 20 minutos a temperatura ambiente. Añadir 10 ml de hidróxido de sodio 0.4 N. Mezclar y dejar reposar 5 minutos a temperatura ambiente.

Leer a 505 nm usando un blanco de agua destilada.

Curva de calibración:

Preparar una serie de tubos de la siguiente forma:

N°.	Agua	Sustrato ac. -ceto- glutárico-alanina.	ac.pirúvico 0.0015 M.	ALAT mU/ml
1	0.2 ml	1.0 ml	0.0 ml	0
2	0.2 ml	0.9 ml	0.1 ml	12
3	0.2 ml	0.8 ml	0.2 ml	24
4	0.2 ml	0.7 ml	0.3 ml	40
5	0.2 ml	0.6 ml	0.4 ml	60

Añadir 1 ml de reactivo de 2,4-dinitrofenilhidrazina, dejar reposar 20 minutos. Añadir 10 ml de hidróxido de sodio 0.4 N. Mezclar y dejar reposar 5 minutos a temperatura ambiente.

Leer a 505 nm usando el tubo N° 1 como blanco.

CAPITULO V

RESULTADOS.

5.1. Equipo para determinación de amilasa

5.1.1. Sustrato de almidón.

Lote 191280

Meses	pH a 25°C
0	7.010
3	7.012
6	7.012
9	7.009
12	7.008

Lote 180281

Meses	pH a 25°C
0	7.002
3	7.002
6	7.005
9	7.004
12	7.005

Lote 100181

Meses	pH a 25°C
0	7.014
3	7.013
6	7.010
9	7.009
12	7.010

Lote 250581

Meses	pH a 25°C
0	7.028
3	7.020
6	7.025
9	7.022
12	7.020

Lote 120181

Meses	pH a 25°C
0	7.007
3	7.005
6	7.007
9	7.010
12	7.007

Lote 120881

Meses	pH a 25°C
0	7.010
3	7.009
6	7.009
9	7.007
12	7.008

En estos seis lotes analizados se encontró que la variación fué mínima en un año, además en los casos en que hubo variación, se mantuvo siempre dentro de los límites aceptables.

5.1.2. Reactivo de yodo 0.01 N.

En los seis lotes analizados no se encontró ninguna variación en la normalidad durante un año por lo que se puede asegurar que si la fecha de caducidad del equipo es de un año después de su elaboración, el reactivo de yodo 0.01 N se mantendrá estable ese tiempo.

5.1.3. Estabilidad del equipo.

Lote 191280	U. Amilasa/dl	
Meses		
0	183	la media es de 180.4
3	183	
6	170	la desviación estandard es de 5.3
9	183	
12	183	coeficiente de variación 2.9%

Lote 100181	U. Amilasa/dl	
Meses		
0	170	la media es de 170
3	170	
6	170	la desviación estandard es de 0
9	170	
12	170	coeficiente de variación 0

Lote 120181	U. Amilasa/dl	
Meses		
0	153	la media es de 148.6
3	153	
6	153	la desviación estandard es de 5.1
9	142	
12	142	coeficiente de variación 3.4%

Lote 180281 U.Amilasa/dl

Meses

0	160	la media es de 151
3	160	
6	145	la desviación estandar es 8.2
9	145	
12	145	coeficiente de variación 5.4%

Lote 250581 U.Amilasa /dl

Meses

0	150	la media es de 162.8
3	166	
6	166	la desviación estandar es 5.1
9	166	
12	166	coeficiente de variación 3.1%

Lote 120881 U.Amilasa/dl

Meses

0	170	la media es de 170
3	170	
6	170	la desviación estandar es 0
9	170	
12	170	coeficiente de variación 0

En estos seis lotes analizados se encontró que la variación de los valores para actividad de amilasa fué pequeña, la desviación estandar solo en un caso excedió el valor de 5.5, y ya que para una determinación enzimática una desviación estandar de 3 a 5 - se considera buena, se vió que el equipo es estable durante un año por lo menos.

5.2. Equipo para determinación de lipasa.

5.2.1. Aceite de oliva 1%.

Lote 250580	%Transmisión	Lote 251280	%Transmisión
Meses		Meses	
0	97.0	0	97.0
3	98.0	3	97.0
6	98.0	6	97.0
9	97.0	9	98.0
12	97.0	12	98.0

Lote 020680	%Transmisión	Lote 180181	%Transmisión
Meses		Meses	
0	95.0	0	95.0
3	95.0	3	96.0
6	96.0	6	96.0
9	95.0	9	97.0
12	96.0	12	95.0

Lote 070980	%Transmisión	Lote 250481	%Transmisión
Meses		Meses	
0	99.0	0	98.0
3	99.0	3	98.0
6	98.0	6	97.0
9	98.0	9	98.0
12	98.0	12	98.0

En estos lotes se encontró que la variación en los resultados, durante un año fué mínima y siempre se mantuvo dentro de los límites para aprobar el reactivo.

5.2.2. Solución amortiguadora pH 9.1 a 38° C.

Lote 250580	pH a 38°C	Lote 251280	pH a 38°C
Meses		Meses	
0	9.108	0	9.101
3	9.106	3	9.119
6	9.100	6	9.120
9	9.101	9	9.100
12	9.100	12	9.112

Lote 120680	pH a 38°C	Lote 180181	pH a 38°C
Meses		Meses	
0	9.120	0	9.100
3	9.118	3	9.108
6	9.120	6	9.104
9	9.115	9	9.099
12	9.110	12	9.101

Lote 070980	pH a 38°C	Lote 250481	pH a 38°C
Meses		Meses	
0	9.088	0	9.104
3	9.100	3	9.105
6	9.100	6	9.109
9	9.100	9	9.102
12	9.090	12	9.110

En seis lotes del reactivo analizado se encontró que la variación de pH fué pequeña y siempre estuvo dentro de los límites aceptables para el reactivo por lo que se aprobó la fecha de caducidad para un año después de su elaboración.

5.2.3. Estabilidad del equipo para determinación de lipasa.

Lote 250580

Meses	Unidades de lipasa	
0	6.9	la media es de 7.1
3	7.2	
6	6.9	la desviación estandard es 0.3
9	6.9	
12	7.6	coeficiente de variación 4.3%

Lote 020680

Meses	Unidades de lipasa	
0	7.5	la media es 7.1
3	7.6	
6	7.6	desviación estandard 0.05
9	7.6	
12	7.5	coeficiente de variación 0.72%

Lote 070980

Meses	Unidades de lipasa	
0	12.35	media 12,08
3	12.35	
6	12.10	desviación estandard 0.26
9	11.80	
12	11.80	coeficiente de variación 2.1%

Lote 251280

Meses	Unidades de lipasa	
0	11.6	media 11.68
3	12.35	
6	12.35	desviación estandard 0.75
9	10.5	
12	11.6	coeficiente de variación 6.4%

Lote 180181

Meses	Unidades de lipasa	
0	12.35	la media es 11.61
3	12.35	
6	12.35	desviación estandard 1.01
9	10.5	
12	10.5	coeficiente de variación 8.7%

Lote 250481

Meses	Unidades de lipasa	
0	12.37	La media es 12.52
3	12.88	
6	12.9	desviación estandard 0.35
9	12.1	
12	12.37	coeficiente de variación 2.8%

En general se considera que las determinaciones de actividad enzimática tienen un rango de error (desviación estandard) de 3 a 5 % en el caso de la determinación de lipasa, la desviación estandard observada en estos seis lotes, fué menor de dos, por lo que se considera que durante un año, los reactivos no sufren pérdidas en su capacidad reactiva.

5.3. Equipo para determinación de Deshidrogenasa láctica.

5.3.1. Desarrollador de color, 2,4-dinitrofenilhidrazina.

Lote 300480	% Transmisión	Lote 020181	% Transmisión
Meses		Meses	
0	72.0	0	71.0
3	73.0	3	71.0
6	73.5	6	72.0
9	74.0	9	71.0
12	73.0	12	71.0

Lote 150880	% Transmisión	Lote 120481	% Transmisión
Meses		Meses	
0	74.0	0	71.0
3	73.5	3	71.0
6	73.5	6	72.0
9	74.0	9	72.0
12	74.0	12	70.5

Lote 201081	% Transmisión	Lote 200781	% Transmisión
Meses		Meses	
0	72.0	0	74.0
3	72.0	3	74.0
6	72.0	6	74.0
9	72.5	9	74.0
12	72.5	12	74.0

Durante el año que se analizaron estos reactivos se encontró una pequeña variación que no impide que se apruebe la fecha de caducidad para un año, ya que estas variaciones siempre se mantuvieron dentro de los límites establecidos.

5.3.2. Sustrato de ácido pirúvico.

Lote 300480

Meses	pH	% Transmisión
0	7.609	13.0
3	7.610	13.0
6	7.609	13.0
9	7.608	12.5
12	7.609	12.5

Lote 150880

Meses	pH	% Transmisión
0	7.609	12.5
3	7.609	12.5
6	7.609	13.0
9	7.595	13.0
12	7.596	13.0

Lote 201080

Meses	pH	% Transmisión
0	7.600	13.0
3	7.601	13.0
6	7.600	13.0
9	7.600	12.5
12	7.600	12.5

Lote 020181

Meses	pH	% Transmisión
0	7.600	13.0
3	7.601	13.0
6	7.600	13.0
9	7.602	13.0
12	7.600	13.0

Lote 150880

Meses	pH	% Transmisión
0	7.605	12.5
3	7.606	12.5
6	7.606	12.5
9	7.605	12.5
12	7.606	12.0

Lote 201080

Meses	pH	% Transmisión
0	7.605	13.0
3	7.605	13.0
6	7.606	13.0
9	7.603	13.0
12	7.600	13.0

La variación de pH fué mínima durante un año y siempre estuvo dentro de los límites aceptables para el reactivo.

5.3.3. Reactivo de Dihidronicotinamida-Adenina.

Lote 300480

Meses	pH	A. a 259 nm	A. a 340 nm
0	7.030	0.14	0.62
3	7.028	0.14	0.62
6	7.030	0.14	0.62
9	7.029	0.14	0.62
12	7.031	0.14	0.62

Lote 150880

Meses	pH	A. a 259 nm	A.a 340 nm
0	7.090	0.14	0.63
3	7.090	0.14	0.63
6	7.090	0.14	0.63
9	7.085	0.14	0.63
12	7.090	0.14	0.63

Lote 201080

Meses	pH	A. a 259 nm	A. a 340 nm
0	7.001	0.15	0.63
3	7.005	0.14	0.63
6	7.000	0.14	0.63
9	7.001	0.15	0.63
12	7.000	0.14	0.63

Lote 020281

Meses	pH	A. a 259 nm	A. a 340 nm
0	7.010	0.14	0.62
3	7.010	0.14	0.62
6	7.009	0.14	0.62
9	7.010	0.14	0.62
12	7.009	0.14	0.62

Lote 150880

Meses	pH	A. a 259 nm	A. a 340 nm
0	7.005	0.14	0.63
3	7.005	0.14	0.63
6	7.006	0.14	0.62
9	7.004	0.14	0.62
12	7.004	0.14	0.62

Lote 201080

Meses	pH	A. a 259 nm	A. a 340 nm
0	7.000	0.14	0.62
3	7.001	0.14	0.62
6	7.000	0.14	0.62
9	7.001	0.14	0.62
12	7.000	0.14	0.62

Los valores obtenidos al analizar seis lotes de reactivo durante un año tuvieron variación mínima y siempre se mantuvieron dentro de los límites fijados.

5.3.4. Hidróxido de sodio 0.4 Normal.

Se determinó la normalidad cada tres meses en seis lotes de reactivo, y no se encontró ninguna variación por lo que establecimos que durante un año la solución es estable a temperatura ambiente.

5.3.5. Estabilidad del equipo para determinación de D.H.L.

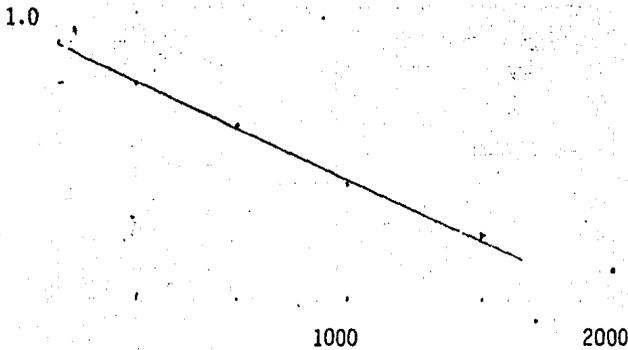
Lote 300480

Tubos	1	2	3	4	5	6	Suero
Meses							
0	0.88	0.77	0.61	0.42	0.23	0.12	0.65
3	0.90	0.74	0.58	0.39	0.23	0.13	0.66
6	0.88	0.74	0.60	0.40	0.24	0.13	0.65
9	0.88	0.75	0.61	0.42	0.23	0.12	0.64
12	0.90	0.74	0.58	0.40	0.24	0.12	0.66

Curva patrón de ácido pirúvico

Para determinación de D.H.L. en suero.

Extinción



Unidades de D.H.L. /ml de suero

Lote 300480

Tubos	1	2	3	4	5	6	Suero	U/ml D.H.L.
Meses								
0	0.88	0.77	0.61	0.42	0.23	0.12	0.65	480
3	0.90	0.74	0.58	0.39	0.23	0.13	0.66	460
6	0.88	0.74	0.60	0.40	0.24	0.13	0.65	480
9	0.88	0.75	0.61	0.42	0.23	0.12	0.64	500
12	0.90	0.74	0.58	0.40	0.24	0.12	0.66	460
media	D.E.	C.V.						
480	17.32	3.6%						

Lote 150880

Tubos	1	2	3	4	5	6	Suero	U/ml D.H.L.
Meses								
0	0.90	0.75	0.59	0.40	0.21	0.11	0.65	480
3	0.88	0.74	0.58	0.40	0.21	0.11	0.66	460
6	0.88	0.75	0.58	0.40	0.21	0.11	0.65	480
9	0.90	0.75	0.58	0.39	0.22	0.11	0.65	480
12	0.90	0.74	0.59	0.39	0.21	0.11	0.65	480
media	D.E.	C.V.						
474	7.2	1.5%						

Lote 201080

Tubos	1	2	3	4	5	6	Suero	U/ml de D.H.L.
Meses								
0	0.87	0.74	0.59	0.42	0.20	0.11	0.65	480
3	0.87	0.75	0.59	0.40	0.20	0.12	0.65	480
6	0.88	0.74	0.60	0.40	0.20	0.12	0.65	480
9	0.87	0.74	0.59	0.40	0.21	0.12	0.66	480
12	0.87	0.74	0.60	0.39	0.20	0.10	0.66	480
media	D.E.	C.V.						
480	0.0	0.0%						

Lote 020181

Tubos	1	2	3	4	5	6	Suero	U/mTD.H.L.
Meses								
0	0.89	0.76	0.60	0.40	0.21	0.11	0.66	460
3	0.89	0.74	0.59	0.40	0.21	0.11	0.65	480
6	0.88	0.75	0.59	0.40	0.21	0.11	0.65	480
9	0.89	0.75	0.60	0.40	0.21	0.11	0.65	480
12	0.88	0.74	0.60	0.39	0.21	0.12	0.65	480
media	D.E.	C.V.						
474	7.2	1.5%						

Lote 120481

Tubos	1	2	3	4	5	6	Suero	U/mTD.H.L.
Meses								
0	0.90	0.75	0.59	0.39	0.22	0.12	0.64	500
3	0.88	0.74	0.60	0.40	0.22	0.12	0.65	480
6	0.88	0.74	0.60	0.40	0.22	0.11	0.65	480
9	0.88	0.75	0.60	0.40	0.22	0.11	0.66	460
12	0.90	0.74	0.60	0.40	0.22	0.12	0.66	460
media	D.E.	C.V.						
480	17.32	3.6%						

Lote 200781

Tubos	1	2	3	4	5	6	Suero	U/mTD.H.L.
Meses								
0	0.87	0.76	0.59	0.39	0.21	0.11	0.65	480
3	0.88	0.75	0.59	0.39	0.21	0.11	0.65	480
6	0.88	0.75	0.59	0.40	0.21	0.11	0.65	480
9	0.88	0.74	0.60	0.40	0.21	0.12	0.65	480
12	0.89	0.74	0.59	0.40	0.21	0.12	0.65	480
media	D.E.	C.V.						
480	0.0	0.0%						

Al analizar estos seis lotes de reactivos se encontró que el coeficiente de variabilidad fué menor al 10% por lo que es -
confiante la determinación de la actividad de L.D.H. hecha -
con estos equipos, durante un periodo mínimo de un año, así
que la fecha de caducidad quedó establecida un año después de
la fecha de elaboración del equipo.

5.4. Equipo para determinación de Aminotransferasas.

5.4.1. Sustrato de ácido aspártico-acido alfacetoglutámico.

Lote 251280

Meses	pH	Tubo 1 %T	Tubo 2 %T
0	7.416	57.0	30.5
3	7.399	57.0	30.5
6	7.400	57.0	31.0
9	7.401	57.0	31.0
12	7.401	57.0	31.0

Lote 040281

Meses	pH	Tubo 1 %T	Tubo 2 %T
0	7.400	57.5	30.5
3	7.401	57.5	31.0
6	7.401	57.0	31.0
9	7.402	57.0	31.5
12	7.400	57.0	31.5

Lote 120581

Meses	pH	Tubo 1 %T	Tubo 2 %T
0	7.411	58.0	31.0
3	7.410	58.0	31.0
6	7.405	57.5	31.0
9	7.405	57.5	31.0
12	7.408	57.0	31.0

Lote 200881

Meses	pH	Tubo 1 WT	Tubo 2 WT
0	7.415	57.0	30.5
3	7.415	57.5	30.5
6	7.414	57.0	30.5
9	7.411	57.0	30.5
12	7.410	57.5	31.0

Lote 301081

Meses	pH	Tubo 1 WT	Tubo 2 WT
0	7.408	57.5	31.0
3	7.407	58.0	31.0
6	7.407	58.0	31.0
9	7.404	57,5	31.0
12	7.405	57.5	31.0

Lote 2-01281

Meses	pH	Tubo 1 WT	Tubo 2 WT
0	7.401	58.0	31,5
3	7.400	58.0	31.5
6	7.402	58.0	31.0
9m	7.402	58.0	31.0
12	7.402	57.5	31.0

Los valores obtenidos con este grupo de reactivos, fueron estables durante un año. En los casos en que se presentó variación, fué mínima y siempre dentro de los límites aprobados.

5.4.2. Reactivo de 2,4 dinitrofenilhidrazina.

Lote 251280	% Transmisión.	Lote 200881	% Transmisión
Meses		Meses	
0	78.0	0	77.0
3	78.0	3	77.5
6	78.0	6	77.5
9	77.5	9	77.0
12	77.5	12	77.0

Lote 040281	% Transmisión	Lote 301081	% Transmisión
Meses		Meses	
0	77.0	0	77.0
3	77.0	3	78.0
6	77.0	6	78.0
9	77.0	9	77.0
12	77.5	12	78.0

Lote 120581	% Transmisión	Lote 201281	% Transmisión
Meses		Meses	
0	77.5	0	78.0
3	77.0	3	77.5
6	77.0	6	77.0
9	77.5	9	77.0
12	77.5	12	77.0

La variación observada durante un año nos permite asegurar que el reactivo demostró ser estable durante ese tiempo

5.4.3. Sustrato de Alanina-acido alfacetoglutárico.

Lote 251280

Meses	pH	Tubo 1 %T	Tubo 2 %T
0	7.422	57.0	31.0
3	7.421	57.0	31.0
6	7.421	57.0	31.0
9	7.420	57.0	31.5
12	7.420	57.0	31.5

Lote 040281

Meses	pH	Tubo 1 %T	Tubo 2 %T
0	7.415	58.0	31.5
3	7.416	58.0	31.0
6	7.416	58.0	31.0
9	7.415	57.5	31.0
12	7.414	57.0	31.5

Lote 120581

Meses	pH	Tubo 1 %T	Tubo 2 %T
0	7.402	57.5	30.5
3	7.402	57.5	30.5
6	7.400	58.0	30.5
9	7.400	58.0	30.5
12	7.401	58.0	31.0

Lote 200881

Meses	pH	Tubo 1 %T	Tubo 2 %T
0	7.400	57.5	30.5
3	7.401	57.5	30.5
6	7.400	57.0	30.5
9	7.400	57.0	30.5
12	7.402	57.0	31.0

Lote 301081

Meses	pH	Tubo 1 %T	Tubo 2 %T
0	7.444	57.0	31.0
3	7.443	57.0	31.0
6	7.443	57.0	31.0
9	7.442	57.5	31.0
12	7.440	57.5	31.0

Lote 201281

Meses	pH	Tubo 1 %T	Tubo 2 %T
0	7.409	58.0	31.0
3	7.408	58.0	31.5
6	7.408	58.0	31.0
9	7.409	58.0	31.5
12	7.407	57.5	31.5

De acuerdo con estas pruebas el reactivo es estable durante un año.

5.4.4. Acido pirúvico 0.0015 M

Lote 191280

Meses	Identificación	%T
0	+	40.0
3	+	40.5
6	+	40.5
9	+	40.0
12	+	40.0

Lote 040281

Meses	Identificación	%T
0	+	41.0
3	+	41.0
6	+	40.0
9	+	40.5
12	+	40.5

Lote 120581

Meses	Identificación	%T
0	+	41.0
3	+	41.0
6	+	41.0
9	+	40.5
12	+	40.5

Lote 200881

Meses	Identificación	% T
0	+	39.0
3	+	39.0
6	+	39.5
9	+	39.5
12	+	39.5

Lote 301081

Meses	Identificación	% T
0	+	40.5
3	+	40.0
6	+	40.0
9	+	40.5
12	+	40.0

Lote 201281

Meses	Identificación	% T
0	+	40.0
3	+	40.5
6	+	40.0
9	+	40.5
12	+	40.5

Las pruebas realizadas nos indican que durante un año la variación en los resultados del análisis fué muy pequeña y siempre se mantuvo dentro de los límites necesarios para la aprobación del reactivo.

5.4.6. Estabilidad del equipo para determinación de
Aminotransferasas.

Determinación de Aminotransferasa de aspartato:

Lote 251280

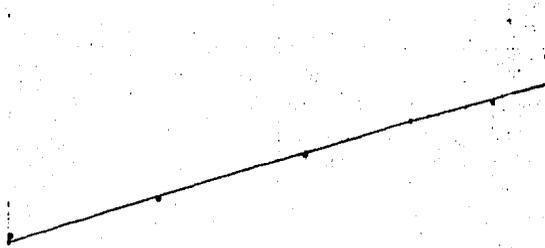
Tubos	1	2	3	4	5	6	Suero
Meses							
0	0.23	0.39	0.46	0.58	0.74	0.88	0.27
3	0.23	0.39	0.47	0.58	0.73	0.86	0.27
6	0.25	0.39	0.46	0.58	0.74	0.86	0.26
9	0.25	0.40	0.47	0.58	0.74	0.86	0.26
12	0.25	0.39	0.47	0.58	0.74	0.86	0.27

Curva patrón de ácido pirúvico.

Para determinación de Aminotransferasa de aspartato.

Extinción

1.0



50

100

Unidades de Aminotransferasa de aspartato / ml de suero.

Lote 200881

Tubos	1	2	3	4	5	6	Suero	U/ml ASAT
Meses								
0	0.26	0.41	0.47	0.58	0.74	0.87	0.43	18
3	0.26	0.41	0.47	0.58	0.74	0.87	0.43	18
6	0.26	0.40	0.47	0.58	0.74	0.87	0.43	18
9	0.27	0.40	0.47	0.58	0.74	0.87	0.43	18
12	0.27	0.40	0.47	0.58	0.74	0.84	0.44	19

Media	D.E.	C.V.
18.4	0.94	5.1

Lote 301081

Tubos	1	2	3	4	5	6	Suero	U/ml ASAT
Meses								
0	0.27	0.40	0.47	0.58	0.74	0.87	0.44	20
3	0.26	0.40	0.47	0.58	0.75	0.87	0.44	20
6	0.26	0.39	0.47	0.58	0.75	0.88	0.43	19
9	0.26	0.39	0.47	0.58	0.75	0.88	0.44	20
12	0.26	0.39	0.47	0.58	0.74	0.88	0.44	20

Media	D.E.	C.V.
19.8	0.44	2.25

Lote 201281

Tubos	1	2	3	4	5	6	Suero	U/ml ASAT
Meses								
0	0.27	0.39	0.47	0.58	0.72	0.84	0.43	18
3	0.27	0.39	0.47	0.58	0.72	0.84	0.43	18
6	0.28	0.39	0.47	0.58	0.72	0.84	0.43	18
9	0.28	0.40	0.47	0.58	0.72	0.84	0.43	18
12	0.25	0.40	0.47	0.58	0.75	0.84	0.44	20

Media	D.E.	C.V.
18.4	1.7	3.2%

Lote 251280

Tubos	1	2	3	4	5	6	Suero	U/ml ASAT
Meses								
0	0.23	0.39	0.46	0.58	0.74	0.88	0.40	15
3	0.23	0.39	0.47	0.58	0.73	0.86	0.39	13
6	0.25	0.39	0.46	0.58	0.74	0.86	0.41	16
9	0.25	0.40	0.47	0.58	0.74	0.86	0.41	16
12	0.25	0.39	0.47	0.58	0.74	0.86	0.41	16
Media	D.E.		C.V.					
15.2	1.3		8.5%					

Lote 040281

Tubos	1	2	3	4	5	6	Suero	U/ml ASAT
Meses								
0	0.27	0.40	0.47	0.58	0.73	0.84	0.44	20
3	0.25	0.40	0.46	0.58	0.72	0.84	0.42	16
6	0.25	0.39	0.47	0.57	0.72	0.84	0.44	20
9	0.25	0.40	0.47	0.57	0.72	0.84	0.44	20
12	0.27	0.40	0.46	0.58	0.72	0.84	0.42	16
Media	D.E.		C.V.					
18.4	2.1		11.9%					

Lote 120581

Tubos	1	2	3	4	5	6	Suero	U/ml ASAT
Meses								
0	0.27	0.39	0.47	0.58	0.72	0.84	0.43	18
3	0.27	0.39	0.47	0.58	0.72	0.84	0.43	18
6	0.27	0.39	0.48	0.58	0.72	0.84	0.43	18
9	0.27	0.40	0.48	0.57	0.72	0.84	0.44	20
12	0.27	0.40	0.48	0.57	0.74	0.86	0.43	18
Media	D.E.		C.V.					
18.4	1.7		3.2%					

Las pruebas de estabilidad nos indican que el reactivo es confiable por lo menos durante un año, ya que en ese lapso de tiempo la determinación de la actividad enzimática tuvo una desviación estandar inferior a 3%.

RESUMEN.

Para poder determinar la actividad enzimática, es necesario controlar el mayor número de factores posible, ya que dicha actividad es muy sensible a cambios de pH, temperatura, concentración etc. a fin de minimizar los cambios en las condiciones de reacción, se procedió a estandarizar los reactivos y a determinar su estabilidad.

Se hicieron pruebas de control de calidad, cada tres meses, durante un año, para comprobar que los reactivos son estables por lo menos durante ese tiempo.

En el equipo para determinación de amilasa, se encontró que la d.e. fué menor de 5.5 excepto en un caso; en una determinación enzimática, una d.e. de 3 a 5 se considera muy buena, así que se observó que el equipo fue estable durante un año.

Para la determinación de Lipasa, la d.e. fué menor de 2%, si tomamos en consideración que una d.e. de 3 a 5 se considera buena para una determinación enzimática, tenemos que la estabilidad del equipo es confiable durante un año.

Al analizar el equipo para determinación de L.D.H. se encontró que el coeficiente de variabilidad fué menor de 10%, por lo que es confiable la determinación, durante un tiempo de un año.

El equipo para determinación de aminotransferasas tuvo una desviación estándar inferior a 3%, por lo que la determinación es confiable durante un año.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES.

De acuerdo con los resultados obtenidos, podemos observar que el coeficiente de variación, con la excepción de un lote de -- reactivos siempre fué menor del 10%, durante un año, conservando los productos en condiciones óptimas de almacenamiento.

Los reactivos así elaborados y estandarizados, estarán garantizados, por un año, siempre y cuando el manejo y almacenamiento sean los adecuados, así se ahorra tiempo al efectuar los análisis al no tener que preparar ni analizar los reactivos previamente.

Para los laboratorios que elaboran sus propios reactivos, es -- recomendable que realicen el control de calidad en sus reactivos para eliminar los posibles errores humanos, por reactivos en mal estado o elaboración incorrecta de los reactivos.

La tendencia en el campo de los análisis clínicos, es lograr la estandarización de los métodos, para poder comparar resultados - de laboratorio a laboratorio, si además todos los reactivos -- empleados estuvieran estandarizados, se lograría aumentar la - confiabilidad y la reproducibilidad de las determinaciones, lo - que se traduciría inmediatamente en un beneficio para las personas que utilizan estos servicios.

Se planea continuar realizando pruebas de control de calidad en otros reactivos, a fin de lograr que todos los reactivos utiliza dos en análisis clínicos tengan garantía de exactitud y reproducibilidad de los resultados.

BIBLIOGRAFIA

Norbert W. Tietz
Fundamentals of Clinical Chemistry
Ed. by Tietz, with contributions
by S.Berger.E.W.Bermes Q.V.Blanke
2a. Edition
Philadelphia: Saunders 1976.

Dr. Matthew Joseph Lynch.
Lynch's Medical Laboratory Technology.
3a. Edition
W.B. Saunders, Philadelphia 1976

Wendell T. Caraway.
American Journal of Clinical Pathology.
32,97 (1959)

Vogel, W.C. y Zieve, L.
Clinical Chemistry.
9,168 (1963)

Cherry I.S., Crandall L.A.
American Journal of Clinical Pathology.
30,234 (1958)

Karmen, A., A note on the especrophotometric assay
of glutamic oxalacetic transaminase in human blood serum
Journal of Clinical Investigation.
34,131-133 (1955)

Wroblewski,F., and Cabaud.P.
Colorimetric measurement of serum glutamic pyruvic transaminasa
American Journal of Clinical Pathology.
27,235-239 (1957)

Reitman, S., Frankel S.
American Journal of Clinical Pathology.
28, 56-63 (1957)

D.W.Moss D.N. Baron, P.G. Walker and Wilkinson
Standarization of Clinical Enzyme assays
Journal of Clinical Pathology
24,740-743 (1971)

Hans, Ulrich Bergmeyer
Standarization of enzyme assays
Clinical Chemistry, Vol. 18 N°. 11 (1972)

D.W.Moss.

The relative merits and applicability of kinetic and fixed
Incubation methods of enzyme assay in clinical enzymology.
Clinical Chemistry Vol. 18 N° 12, (1972)

Estandarización de métodos
Prof. Hans Ulrich Bergmeyer
Boehringer Mannheim
Alemania (1977)