

51
24.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

Diseño, evaluación y comparación del sistema enzimático, con respecto al sistema microtécnica enzimático, de las enzimas. TGO (E. C.-2611) y TGP (E. C.-2612).

Realizado en el Hospital General Regional No. 25 del Instituto Mexicano del Seguro Social

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

JOSE OCHOA SERRANO

DIRECTOR DE TESIS:
DR. RICARDO VICTOR SANTIAGO DIAZ

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO

1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 esta 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

"CUAUTITLAN"

Diseño, evaluación y comparación del sistema enzimático con respecto al sistema microtécnica enzimático de las enzimas, TGO (E.C.-2611) y TGP (E.C.-2612).

Realizado en el Hospital General Regional no 25 del Instituto Mexicano del Seguro Social

Tesis.

Para obtener el título de:
Químico Farmacéutico Biólogo

Presenta:

José Ochoa Serrano

Director de tesis:

Dr. Ricardo Victor Santiago Díaz.

Cuauttlán Izcaill Edo de México
1996.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



Departamento de
Exámenes Profesionales

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLÁN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA: Diseno, evaluación y comparación del sistema analítico con respecto al sistema microtérmico analítico de los ensayos T30 (D.C.-2611) y T30 (D.C.-2612), realizada en el Hospital General Regional / 05 del Instituto Mexicano del Seguro Social, que presenta al pasante: José Carlos Gómez con número de cuenta: 20020567 para obtener el TÍTULO de: Químico Farmacéutico Biotécnico.

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Mex., a 11 de Julio de 1990

PRESIDENTE	Ing. Ricardo V. Gutiérrez Díaz	<i>[Firma]</i>	10/Julio/90
VOCAL	C. A. E. Isaldis Arilla Miyasawa	<i>[Firma]</i>	
SECRETARIO	Ing. Francisco López Meza	<i>[Firma]</i>	
PRIMER SUPLENTE	C. A. E. Rosalva Patricia Pineda Cruz	<i>[Firma]</i>	10/Julio/90
SEGUNDO SUPLENTE	C. A. E. Lorena Patricia Campos León	<i>[Firma]</i>	10/Julio/90

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
" CUAUTITLAN "

Diseño, evaluación y comparación del sistema enzimático,
con respecto al sistema microtécnica enzimático,
de las enzimas , TGO(E.C.-2611) y TGP(E.C.-2612).
Realizado en el Hospital General Regional No 25
del Instituto Mexicano del Seguro Social.

TESIS.

Para obtener el título de:

Químico Farmacéutico Biólogo

Presenta:

José Ochoa Serrano

Director de tesis:

Dr. Ricardo Victor Santiago Díaz

Cuautitlán Izcalli Edo. de México 1996.

DEDICO ESTE TRABAJO AL PROFESOR:

DR. RICARDO VICTOR SANTIAGO DIAZ

POR SU APOYO FIRME Y CONSTANTE PARA QUE REALIZARA
ESTE TRABAJO.

A LOS COMPAÑEROS QUE APOYARON EN LOS MAS
INSIGNIFICANTES DETALLES DEL TRABAJO ASI
COMO COMENTARIOS, PLATICAS, DOCUMENTOS QUE
HICIERON LLEGAR A MI DE ALGUN MODO U OTRO

GRACIAS..

INDICE GENERAL

TITULO.....	1
CAPITULO I INTRODUCCION.....	6
CAPITULO II HIPOTESIS.....	7
CAPITULO III OBJETIVOS.....	8
CAPITULO IV GENERALIDADES.....	
IV.1 NATURALEZA QUIMICA DE LAS ENZIMAS	9
IV.2 NOMENCLATURA DE LAS ENZIMAS.....	10
IV.3 COENZIMAS.....	12
IV.3.1 FIJACION ORDENADA Y AL AEAR DE SUBSTRATO (COENZIMAS).....	12
IV.3.2 ESPECTROS DE ABSORCION DE LA COENZIMA (NAD ⁺ , NADH ₂).....	13
IV.4 PRESENCIA DE LAS TRANSAMINASAS EN DIFERENTES ORGANOS.....	14
IV.5 CINETICA ENZIMATICA.....	16
IV 5.1 FACTORES QUE AFECTAN LA REACCION ENZIMATICA.....	19
IV 5.1.1 EFECTO DEL pH SOBRE LA ACCION ENZIMATICA.....	19
IV 5.1.2 EFECTO DE TEMPERATURA.....	20
IV 5.1.2.1 FACTORES DE CONVERSION DE TEMPERATURA.....	20
IV 5.1.3 OTROS FACTORES QUE AFECTAN REACCIONES ENZIMATICAS.....	21
IV 6 USO ESTADISTICO DE LAS TECNICAS TOO (E.C.-2611) Y TGP (E.C.-2612).....	22
IV 7 ANALISIS ESTADISTICO.....	23
CAPITULO V MATERIAL.....	
V.1 MATERIAL.....	25
CAPITULO VI METODOS.....	
VI.1 METODOS.....	26
VI.2 PROCEDIMIENTO DEL SISTEMA ENZIMATICO PARA TOO (E.C.-2611).....	27
VI.3 PROCEDIMIENTO DEL SISTEMA ENZIMATICO PARA TGP (E.C.-2612).....	32
VI.4 FACTORES DE CORRECCION PARA AJUSTAR LAS DILUCIONES EN EL USO DE LAS ENZIMAS TOO (E.C.-2611) Y TGP (E.C.-2612).....	36
CAPITULO VII RESULTADOS.....	
RESULTADOS DE LA ENZIMA TOO (E.C.-2611).....	41
Suero problema 1.....	45
Suero problema 2.....	50
Suero test point control 1.....	55
Suero test point control 2.....	60

RESULTADOS DE LA ENZIMA TOP (E.C.2612)	62
Suero problema 1.....	66
Suero problema 2.....	71
Suero test point control 1.....	76
Suero test point control 2.....	81
RESUMEN DE RESULTADOS.....	83
CAPITULO VIII CONCLUSIONES Y ANALISIS	
VIII.1 ANALISIS DE RESULTADOS.....	84
VIII.2 CONCLUSIONES.....	85
INDICE DE TABLAS.....	86
TABLA EXPERIMENTALES.....	86
INDICE DE FIGURAS.....	88
INDICE DE CUADROS.....	89
CUADROS EXPERIMENTALES.....	89
INDICE DE GRAFICAS.....	90
GRAFICAS EXPERIMENTALES.....	90
GLOSARIO GENERAL.....	92
BIBLIOGRAFIA.....	98

CAPITULO 1 INTRODUCCION.

Se toman los aspectos más importantes de las transaminasas, TGO (E.C.-2611)* y la TGP (E.C.-2612)*. -La transaminación catalizada por las enzimas llamadas, transaminasas o aminotransferasas implica la interconversión de un par de aminoácidos y un par de cetoácidos, éstos generalmente son alfa amino y alfa cetoácidos. -Las transaminasas funcionan tanto en el catabolismo* de los aminoácidos así como su biosíntesis*. -Estas enzimas se usan como diagnóstico principal; en el corazón, y en el hígado como aspectos más importantes en estudios de laboratorio clínico. -Si se mantiene el movimiento sanguíneo constante, cualquier problema en el miocardio, daña el miocardio así como el movimiento sanguíneo corporal; si hay muerte del individuo, todo termina. - Si llega a sobrevivir aparece a nivel sanguíneo productos de la necrosis celular* pueden presentarse toda clase de proteínas intracelulares, incluyendo las enzimas que nos interesa valorar estas son las transaminasas.

En el Hospital General Regional No.25 del Instituto Mexicano del Seguro Social, llega toda clase de pacientes con males crónicos*, agudos* y politraumatizados*, se da apoyo a otros hospitales del sector salud, todo esto implica que la toma de muestras para laboratorio clínico de urgencias y de rutina sea manejado por personas que desconocen:

- a). -Cantidades de volumen necesario a usar en el análisis de suero, plasma, según sea el caso.
- b). -Implicando personal médico, paramédico y cuerpo de enfermeras, se incluye a los médicos residentes.
- c). -Así como en la condición físico-químico en que debe ir una muestra, sin ó con anticoagulante y que tipo de anticoagulante.

Esto nos da parte de la importancia del trabajo. -El análisis se realizará de la siguiente manera:

Se valorará la actividad enzimática* de TGO (E.C.-2611) y TGP (E.C.-2612) con la técnica usada en el laboratorio de urgencias como procedimiento manual tradicional y ésta misma técnica se le modificará un parámetro* que corresponde a la "cantidad de suero" y éste será el procedimiento llamado "microtécnica enzimática" y se procesarán de la siguiente manera.

El procedimiento se realiza para ambas enzimas se valorará la actividad enzimática tanto en sueros sin diluir como diluidos.

Se valoran los resultados obtenidos con un método estadístico "ANDEVA" y se graficarán los resultados obtenidos.

*VER GLOSARIO

CAPITULO II HIPOTESIS.

Si la técnica probada permite obtener resultados semejantes a la técnica tradicional, podrá sugerirse que el empleo de la técnica propuesta será una buena alternativa en los laboratorios de análisis bioquímicos clínicos, propuesto para las enzimas TGO (E.C.-2611) y TGP (E.C.2612).

Que repercutiría en los siguientes aspectos:

- Costos (consumo de reactivos y soluciones).
- Velocidades (rapidez y veracidad de resultados).
- Sensibilidad de la prueba.

CAPITULO III OBJETIVOS.

- 1).-Estandarizar la microtécnica enzimática propuesta para valorar las enzimas TGO(E.C.2611) y TGP(E.C.-2612).
- 2).-Comparar que los datos obtenidos en el sistema enzimático tradicional de las enzimas TGO(E.C.2611) y TGP(E.C.-2612) usadas en los laboratorios de urgencias en pacientes con enfermedades hepáticas y cardiacas, así como otras enfermedades, son similares en los datos obtenidos en el sistema propuesto, microtécnica enzimática usada en este trabajo.
- 3).-Corroborar con sueros control conocidos, los valores obtenidos en la técnica TGO(E.C.-2611) y TGP(E.C.-2612) usada en laboratorios como método tradicional y comparar los valores de la microtécnica propuesta.

CAPITULO IV GENERALIDADES.

TEMA IV.1 NATURALEZA QUIMICA DE LAS ENZIMAS

Las enzimas, son proteínas, son solubles hasta cierto grado en agua, glicerol y alcohol diluido, precipitan de sus soluciones por precipitantes de proteínas, como alcohol concentrado, sulfato amónico y ácido tricloro-acético, no son dializables* a causa de su naturaleza coloidal* aunque algunas posean pequeñas moléculas disociables llamados grupos prostéticos**.

Las enzimas que hasta ahora han podido ser elucidadas, se dividen químicamente en dos grupos:

- a).-Simples*.-Que como su nombre implica, contienen solo una proteína.
- b).-Complejas*.-En las cuales está asociado a un grupo prostético con una proteína específica. (3,4,5).

La disociación de éstas dos entidades causa inactivación, ninguno de los dos componentes es por sí solo una enzima, las enzimas complejas se pueden considerar de la siguiente manera:



Las enzimas aumentan la velocidad de las reacciones bioquímicas en las células y en sistemas "IN VITRO" que de otra forma tendrían dificultades las reacciones enzimáticas en realizarse, además tienen las siguientes propiedades:

- a).-Producen efecto con cantidades mínimas.
- b).-Resultan inalteradas en la reacción.
- c).-En cantidades pequeñas con respecto al sustrato no afectan el equilibrio de la reacción reversible, si no que aumentan la velocidad con la cual se alcanza el equilibrio.

Como todas las enzimas, una alteración en su estructura o la desnaturalización son equivalentes a una pérdida de la actividad enzimática, la cual la estabilidad depende entre otras cosas de:

- a).-De la temperatura.
- b).-La concentración de iones hidrógeno (pH).
- c).-La concentración de sales.

Las áreas de la superficie de las enzimas que sirven para fijar el sustrato o producto de la reacción se denominan "sitios activos" o "sitios de unión".

Las enzimas de estructura compleja, poseen a menudo otros sitios alejados del sitio activo que parecen afectar la actividad enzimática, denominados "sitios alostéricos" o

*VER GLOSARIO

"sitios reguladores".

Los cambios en la secuencia de aminoácidos de una proteína podrían producir diferentes enzimas, presumiblemente con diferentes "sitios activos" o incluso proteínas similares sin actividad catalítica, se considera que las diferencias de especificidades enzimáticas están relacionados con diferencias físicas en el sitio activo, algunas enzimas que reaccionan con muchos compuestos afines se dice que poseen amplia especificidad.

Cuando una enzima necesita de un ión inorgánico para su óptima actividad, éste se denomina cofactor o activador y puede ser como ejemplo: los iones cloro, calcio, zinc, hierro, cobre, manganeso, molibdeno, cobalto, potasio, etcétera.-Las enzimas también pueden denominarse genéricamente de acuerdo a su especificidad y sitio celular como:

a).-Organoespecífica*.

b).-Unilocular*.

c).-Bilocular*.

Algunas enzimas comúnmente encontradas en el laboratorio clínico han demostrado, estar formadas por subunidades, pero solo se han hallado actividad enzimática significativa.-Estas enzimas que están conformadas de diferentes subunidades, que se encuentran en diferentes órganos, pero que catalizan la misma reacción enzimática son llamados "Isoenzimas" o "Isoenzimas" y más recientemente formas moleculares de una enzima. Se han establecido mas de 50 Isoenzimas de la enzima TGO (E.C.-2611).-El término es solo aplicable a las formas de la enzima que provienen de diferencias, genéticamente determinadas en la estructura primaria (o sea la secuencia de aminoácidos) las isoenzimas deben distinguirse con base en la movilidad electroforética utilizandose como subíndice la primer forma en la cual dicha movilidad esta más cerca del ánodo (+). (1,3,4,6).-Genéticamente hablando se desarrollo la hipótesis; que un solo gen es responsable de la síntesis de una enzima.

TEMA IV.2 NOMENCLATURA DE LAS ENZIMAS.

Con los rápidos avances que se están logrando en la enzimología, se hizo aparente hace algunos años que era necesario un sistema para la clasificación y nomenclatura de las enzimas, en la mayoría de los casos se basaba en el agregado del sufijo "asa" al nombre del sustrato el cual aunque significaba que esta enzima ataca a un aminoácido, no daba indicación del mecanismo involucrado, el sistema se volvió más confuso al darse distintos nombres a la misma enzima y además variados nombres triviales o comunes. (1,3,13).

TGO(E.C.-2611)	
Transaminasa glutámico oxalacética	(TGO)
Substrato transaminasa glutámico oxalacética.....	(STGO)
Aspartato transferasa	(AST)
Aspartato amino transferasa	(ASAT)
TGP(E.C.-2612)	
Transaminasa glutámico piruvico	(TGP)
Substrato transaminasa glutámico piruvico.....	(STGP)
Alanina transferasa	(ALT)
Alanina amino transferasa.....	(ALAT)

CUADRO 1.-Clasificación según la Comisión de Enzimas (E.C.) de la Unión Internacional de Bioquímica y sus nombres comunes.

Dada la creciente complejidad en los nombres encontrados en la bibliografía y al número cada vez mayor de enzimas descubiertas, se requirió de una sistematización de la nomenclatura, para tal efecto, La Unión Internacional de Bioquímica conformó la Comisión de Enzimas, que ha desarrollado y propuesto una convención sistemática para la denominación de las enzimas. Este sistema se basa en la reacción catalizada y provee a cada enzima de un código numerico, que se forma de cuatro números separados por periodos.

El primero, asigna a la enzima una de las 6 categorías o clases de reacciones, los siguientes 2 números corresponden a la subclase de reacción y el último es la serie exclusiva de la enzima para su subclase.

1.- Oxid. reductasas, que catalizan reacciones de oxidación-reducción.
2.- Transferasas, que catalizan reacciones de transferencia de grupos.
3.- Hidrolasas, que catalizan reacciones con transferencia de grupos al agua.
4.- Lisasas, que catalizan reacciones de grupos a doble enlace o viceversa.
5.- Isomerasas, que catalizan isomerizaciones.
6.- Lisasas (sintetasas), que catalizan la condensación de dos moléculas asociadas a la degradación del enlace pirifosfato del ATP a un trifosfato similar.

TABLA 1.- Clasificación de la Comisión de Enzimas de la Unión Internacional de Bioquímica que clasifica en seis grupos generales, dada por el primer número.

Resulta obvio que si a cada una de las tres divisiones se le da el nombre, las enzimas llevarían un título abultado, semejante en algunas formas a la clasificación zoológica, con el fin de evitar esto se introduce el sistema de numeración y así cada enzima tiene un número de La Comisión de enzimas, junto con su nombre sistemático y el trivial aprobados, el siguiente ejemplo muestra como trabaja el sistema.

Enzima-111

NÚMERO	NOMBRE SISTEMÁTICO	NOMBRE TRIVIAL	REACCIONES
2.	Transferasas.		
2.6.	transferasas de grupos que contienen nitrógeno.		
2.6.1.	Aminotransferasas (es. los también triviales =1 EXEMPLE AMINOTRANSFERASAS PUEDEN SUSTITUIRSE POR TRANSFERASAS)		
2.6.1.1.	L-aspartato 2 oxo-glutarato amino transferasa.	Aspartato amino transferasa	L-aspartato + 2 oxoglutarato = oxalacetato + L-glutamato.
2.6.1.2.	L-alanina 2 oxo-glutarato amino transferasa.	Alanina amino transferasa	L-alanina + 2 oxoglutarato = piruvato + L-glutamato

Nota: esta clasificación simplificada se puede realizar para cualquier enzima a estudiar.

CUADRO 2.- Ejemplo de como se clasifica la enzima TGO (E.C.-2611) y TGP (E.C.-2612) por la Comisión de Enzimas de la Unión Internacional de Bioquímica.

TEMA IV.3 COENZIMAS.

Muchas enzimas, que catalizan un amplio aspecto de reacciones bioquímicas requieren la presencia de un pequeño grupo "prostético" no proteico, llamados también cofactores o coenzimas más o menos íntimamente ligados a la proteína, para realizar eficazmente su función catalítica.

La distinción entre sustrato y coenzima, en una reacción enzimática suele ser oscura, ya que tanto la enzima como el sustrato pueden verse estructuralmente alterados durante el curso de la reacción. (1,2,3,4,12).

Se encontró un sistema enzimático en la levadura, y una coenzima (en principio se le llamó cofermento) que se podía obtener de los hematies, se llamó subssecuentemente coenzima II⁺ por su similitud con otra coenzima; la coenzima I⁺, se demostró que ésta coenzima está relacionada con el ácido adenilico AMP muscular, ya que éste compuesto se libera por hidrólisis enzimática de la coenzima I.-Se propuso los nombres de: DPN⁺ y TPN⁺ que son respectivamente, (coenzima I y coenzima II) (30).

TEMA IV.3.1 FIJACION ORDENADA Y AL AZAR DE SUBSTRATOS (COENZIMAS).

La mayor parte de las enzimas catalizan una reacción entre dos o más sustratos, originando uno o más productos, para algunas enzimas todos los sustratos deben estar presentes de manera simultanea para que la reacción se realice, para otras, la enzima primero altera uno y después cataliza su reacción con un segundo sustrato.-La forma en que una enzima se une a ellos puede ser al azar u ordenada.

Muchas reacciones que requieren "coenzimas" producen por mecanismos de "PING PONG", llamados así porque la enzima alterna entre las formas E y E', si bien, una coenzima con frecuencia puede considerarse, como un segundo sustrato, algunas se usan por

*VER GLICOLIS

covalencia o mediante enlaces no covalentes firmes a la enzima de modo que rara vez se disocian en estos casos, al complejo enzima - coenzima se le considera como la enzima. (1-7).

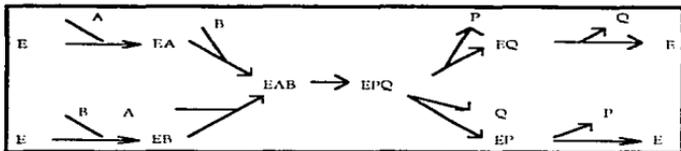


FIGURA 1.- Mecanismo aleatorio de reacciones enzima-coenzima.

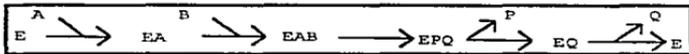


FIGURA 2.-Mecanismo ordenado de reacciones enzima-coenzima

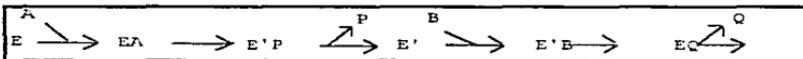
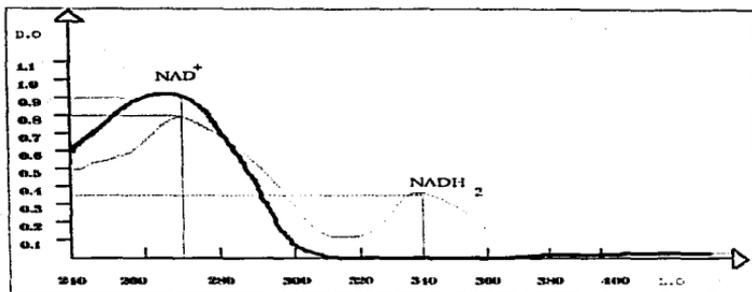


FIGURA 3.- Mecanismo de "PING PONG" de reacciones enzima-coenzima

TEMA IV.3.2 ESPECTROS DE ABSORCION DE LA COENZIMA (NAD⁺,NADH₂).

La coenzima actúa como portador de hidrogeno, debido a la facilidad con que el residuo de nicotinamida capta dos átomos de hidrógeno. Los piridin-nucleótidos y sus deshidrogenasas han sido muy útiles para estudios cinéticos y de mecanismos de acción enzimática.

Hay un método especial para distinguir el piridin nucleótido oxidado de reducido, éste método se basa en la observación de que las coenzimas reducidas absorben la luz a 340 nm. y las oxidadas a 260 nm., la aparición o la desaparición de la absorbancia, se puede seguir con el espectrofotómetro. (1,7) gráfica 1

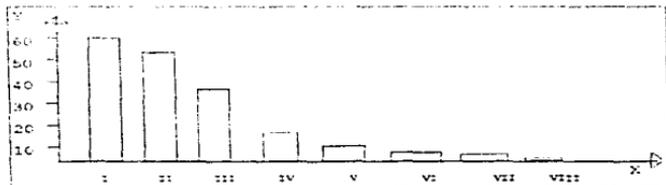


D.O. Densidad óptica L.C. Longitud de onda (nm);

GRAFICA 1.-Espectros de absorción de la coenzima: coenzima 1 = (NAD) oxidada
coenzima 2 = (NADH) reducida

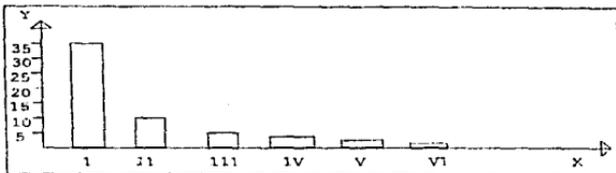
TEMA IV.4 PRESENCIA DE TGO (E.C.-2611) Y TGP (E.C.-2612) EN
DIFERENTES ORGANOS.

Las enzimas se hallan ampliamente distribuidas en diferentes tejidos, habiendo pequeñas cantidades en los eritrocitos y en el suero sanguíneo de los individuos normales. Las bilirrubinas, aparecen, como importante vía de eliminación de las enzimas, ya que se encuentran altos valores de estas en el suero sanguíneo después de la oclusión experimental del colédoco de animales (7,15,22,23). gráfica (2,3)



I = Unidades de enzima/gramo de tejido. X = Distintos órganos.
I- Músculo 55 U/g. II- Corazón 50 U/g. III- Estómago esquelético 30 U/g.
IV- Intestino 15 U/g. V- Hígado 10 U/g. VI- Páncreas 5 U/g.
VII- Pulmón 5 U/g. VIII- Eritrocitos 0.5 U/g.

GRAFICA 2.-Contenido enzimático en unidades gramo, de cada órgano de la enzima correspondiente TGO (E.C.2611).



Y = Unidades de enzima/gramo de tejido X = Distintos órganos
 I - Hígado 35 U/g. II - Corazón 7-8 U/g. III - Músculo esquelético 3-4 U/g.
 IV - Riñón 1-2 U/g. V - Páncreas 0-0.7 U/g. VI - Eritrocitos 0-0.1 U/g.

GRAFICA 3.-Contenido enzimático en unidades gramo ,de cada órgano de la enzima correspondiente TGP (E.C.2612)

Hay tejidos ricos en enzimas de TGO(E.C.-2611) y TGP(E.C.-2612).cuadro(3)

1.- Cardíaco] Su contenido es mayor que en cualquier otro tejido
2.- Hepático	
3.- Muscular esquelético	
4.- Riñón	
5.- Cerebral	
6.- Páncreas	
7.- Haza	
8.- Pulmón] Hay concentración alta en casos patológicos
9.- Superf.	

CUADRO 3.- Contenido histico de concentración mayor a la menor de la enzima TGO(E.C.-2611) también de la enzima TGP(E.C.-2612) pero en menos proporción.

La enzima TGP(E.C.-2612) va generalmente paralela a la enzima TGO(E.C.-2611) pero al aumento es menos.-Intenso en las siguientes enfermedades:

Necrosis miocárdica*, **Hepatitis crónica***, **Cirrosis*** **Metástasis hepática***, y sus trastornos congestivos.

La enzima TGP(E.C.-2612), al aumento es más intenso en las siguientes enfermedades:

-Necrosis hepáticas*, **Hepatitis aguda***.

Se da una integración del uso de las enzimas TGO(E.C.-2611) y TGP(E.C.-2612) en la enfermedad infarto al miocardio*. (14,15,16,18) tabla (2).

*VER GLOSARIO

ENZIMAS SÉRICAS	TCO(E.C.-2611)	TGP(E.C.-2612)
Primer aumento (horas)	6 - 8	Generalmente normal, excepto si hay una lesión hepática debida a insuficiencia cardíaca congestiva, shock
Concentración máxima(horas)	74 - 4h	
Vuelta a la normalidad(días)	4 - 6	
Amplitud de lo normal	5	
Comentarios	La mayoría de los métodos utilizados	4100.

TABLA 2.- Resumen de concentración de enzimas séricas elevadas de TCO(E.C.-2611) y TGP(E.C.-2612) después de un infarto agudo de miocardio.

En la siguiente tabla se dan varias enfermedades, en la cual las enzimas TCO(E.C.-2611) y TGP(E.C.-2612) están involucradas como datos importantes para el diagnóstico de estas enfermedades en el laboratorio clínico(4,15,19,20,21) tabla(3)

ENFERMEDAD	TCO(E.C.-2611)	TGP(E.C.-2612)
Hepatitis	Aumento gradual de las actividades de las enzimas séricas. El aumento de la actividad de la TGP es más marcado que el de la TCO. El aumento de la actividad de la TGP es más marcado que el de la TCO.	Primer aumento de las actividades de las enzimas séricas. El aumento de la actividad de la TGP es más marcado que el de la TCO. El aumento de la actividad de la TGP es más marcado que el de la TCO.
Cardiopatía	Aumento de las actividades de las enzimas séricas. El aumento de la actividad de la TGP es más marcado que el de la TCO. El aumento de la actividad de la TGP es más marcado que el de la TCO.	Aumento de las actividades de las enzimas séricas. El aumento de la actividad de la TGP es más marcado que el de la TCO. El aumento de la actividad de la TGP es más marcado que el de la TCO.
Enfermedades metastásicas, cáncer metastático.	Aumento de las actividades de las enzimas séricas. El aumento de la actividad de la TGP es más marcado que el de la TCO. El aumento de la actividad de la TGP es más marcado que el de la TCO.	Aumento de las actividades de las enzimas séricas. El aumento de la actividad de la TGP es más marcado que el de la TCO. El aumento de la actividad de la TGP es más marcado que el de la TCO.
Neurolisis obstructiva, insuficiencia cardíaca congestiva.	Aumento de las actividades de las enzimas séricas. El aumento de la actividad de la TGP es más marcado que el de la TCO. El aumento de la actividad de la TGP es más marcado que el de la TCO.	Aumento de las actividades de las enzimas séricas. El aumento de la actividad de la TGP es más marcado que el de la TCO. El aumento de la actividad de la TGP es más marcado que el de la TCO.
Insuficiencia cardíaca congestiva, shock, insuficiencia cardíaca congestiva.	Aumento de las actividades de las enzimas séricas. El aumento de la actividad de la TGP es más marcado que el de la TCO. El aumento de la actividad de la TGP es más marcado que el de la TCO.	Aumento de las actividades de las enzimas séricas. El aumento de la actividad de la TGP es más marcado que el de la TCO. El aumento de la actividad de la TGP es más marcado que el de la TCO.

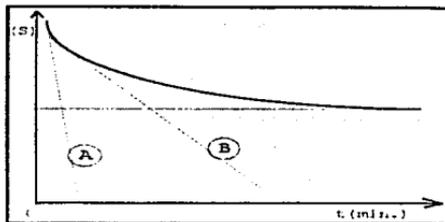
TABLA 3.- Resumen de concentración de enzimas séricas elevadas de TCO(E.C.-2611) y TGP(E.C.-2612) en la enfermedad hepática.

TEMA IV.5 CINÉTICA ENZIMÁTICA

Para medir la velocidad de una reacción química se ha de iniciar la reacción en un instante determinado, por ejemplo, mezclando rápidamente dos substratos, mientras que se mantiene la mezcla a una temperatura y a un pH constante, se mide la concentración de uno de los substratos o de los productos, después de transcurrido un intervalo de tiempo y/o diversos tiempos.

Cualquiera que sea el procedimiento, la información que se busca es la velocidad a la que varía alguna de las concentraciones: ya sea de productos o substratos.

Puede emplearse una expresión de velocidad integrada: donde describe la formación del producto a valorar en el tiempo determinado y existen otros artificios para comparar las



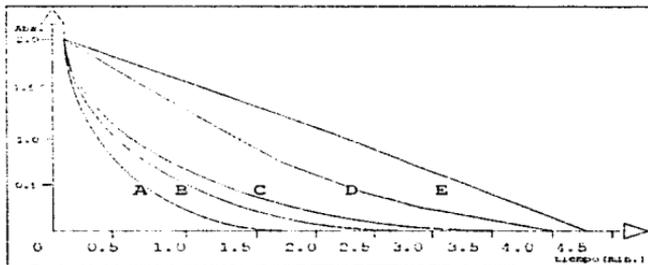
S = Substrato

t (min) = Tiempo en minutos

A = La velocidad inicial viene dada por la pendiente de esta línea

B = En cualquier instante posterior la pendiente es menor al tiempo cero

GRAFICA 5.-Curva que representa el progreso de una reacción enzimática en la que el sustrato se convierte en productos.



CURVA A = Es un proceso de valoración ZIN-DILUCION característico de la cinética de Michaelis y Menten.

CURVAS B, C, D, E = Son valoración con dilución que condicionan el uso de una micrométrica.

GRAFICA 6.-Curvas obtenidas de un suero con enzimas en concentración alta que puede representar tanto una enzima como otra, sea TGO (E.C.-2611) y TGP (E.C.-2612).

TEMA IV 5.1 FACTORES QUE AFECTAN LA VELOCIDAD ENZIMÁTICA.

Hay varios factores que afectan la velocidad con que se lleve a cabo una reacción catalizada por enzimas, algunos de ellos son:

-pH

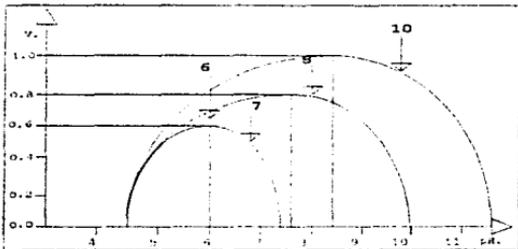
-TEMPERATURA

-CONCENTRACION DE LA ENZIMA

-CONCENTRACION DEL SUBSTRATO

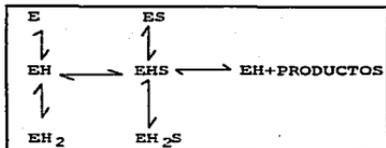
TEMA IV 5.1.1 EFECTO DEL pH.

La participación de grupos Ácidos (H) y grupos básicos (OH) en la catálisis enzimática* se basan en su mayor parte en los estudios efectuados sobre reacciones modelo "NO ENZIMÁTICO". Hay alguna evidencia de que las enzimas contienen realmente tales grupos, la respuesta es si, la más directa es la variación de la actividad enzimática con el pH, se encuentra la gráfica representada de velocidad máxima, frente al pH, como una curva acompañada. (1,2,3,4.) ver gráfica 7.



GRAFICA 7.-Curva campana que resulta de una actividad enzimática (velocidad máxima) que es afectada por el pH.

Se observa una velocidad óptima a pH de 6 - 9, éste tipo de curva puede interpretarse muy sencillamente suponiendo la presencia en el sitio activo de dos grupos ionizables, Como resultado existen tres formas de la enzima con diferentes grados de protonización: E, EH, EH₂.



EHS=Producto intermedio E=Enzima no activa
 EH=Enzima libre activa ES=Producto intermedio inactivado
 EH₂=Formas inactivas EH₂S=ES no reaccionan

FIGURA 4.- Diferentes productos protonados según el pH de las formas: E, EH, EH₂.

Si se supone que solamente reacciona la forma EHS para dar productos se obtiene la curva acompañada antes propuesta.

TEMA IV 5.1.2 EFECTO DE TEMPERATURA

Las velocidades de todas las reacciones químicas aumentan con un incremento en la temperatura. Tal incremento origina un aumento en la energía cinética y en la velocidad media de las moléculas con el resultado de una mayor probabilidad de colisiones efectivas* que originan la reacción, a temperatura elevada se desnaturalizan* las enzimas, la velocidad de reacción, se duplica por cada incremento de 10°C de temperatura en grados centígrados y se designa como:

$$Q_{10} = Q_{10} = 2$$

La mayor parte de las enzimas tienen una temperatura óptima*, es decir aquella en la cual catalizan con una velocidad máxima*, estas se hallan por lo general cerca de la temperatura normal* que experimenta el organismo del cual forman parte, la mayor parte de las enzimas tienen una temperatura óptima de 37°C (en los mamíferos la temperatura óptima es de 37°C y en las aves es de 42°C).

TEMA IV 5.1.2.1 FACTORES DE CONVERSION DE TEMPERATURA.

Se puede convertir resultados de la temperatura real* usada a resultados aproximados a otras temperaturas, si se trabaja a 25°C, tipo manual y se llega a ocupar un aparato automatizado que procese la misma prueba a una temperatura de 37°C, la correlación de resultados multiplicado por el factor adecuado de temperatura demostraría, que los procesos son confiables y que dan el mismo resultado práctico.

*VER GLOSARIO

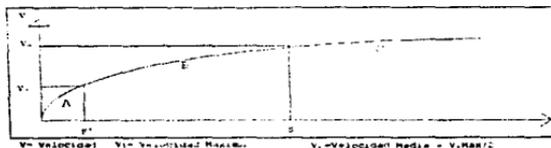
TEMPERATURA MEZCLA DE REACCION	25°C	30°C	35°C	37°C
25	1.00	1.40	1.55	2.18
26	0.93	1.30	1.48	2.03
27	0.88	1.22	1.39	1.90
28	0.82	1.14	1.30	1.78
29	0.77	1.07	1.22	1.67
30	0.72	1.00	1.14	1.56
31	0.68	0.93	1.07	1.47
32	0.63	0.86	1.00	1.37
33	0.59	0.80	0.94	1.29
34	0.56	0.75	0.88	1.21
35	0.52	0.70	0.81	1.13
36	0.48	0.65	0.75	1.04
37	0.44	0.60	0.70	1.01
38	0.43	0.60	0.68	0.92

TABLE 4.-Factores de conversión de temperatura tabla extrapolada de Henry Col.Referencia(25)

TEMA IV 5.1.3 OTROS FACTORES.

-Concentración de las enzimas , la velocidad de reacción aumenta en proporción directa a la concentración de la enzima que cataliza , lo cual sugiere que la interacción enzima-sustrato cumple con la ley de asociación de masas.

-Concentración del sustrato, para una concentración fija de enzima, la velocidad inicial aumenta (antes de que se consuma bastante sustrato), primero incrementando la concentración del sustrato, con el tiempo se alcanza un máximo y la adición de más sustrato, ya no influye sobre la velocidad máxima.



S=Substrato

S'=Concentración de sustrato a velocidad media.

SEGMETO A: Lineal cinética de primer orden con respecto al sustrato y la enzima, la concentración inicial del sustrato es baja y limita la velocidad.

SEGMETO B: Curvo, cinética de primer orden con respecto a la enzima ; orden mixto (primer orden y orden cero) con respecto al sustrato.

SEGMETO C: Casi lineal, cinética de primer orden con relación a la enzima, muy cercana al orden cero con relación al sustrato.

GRAFICA 3 .- Efecto de la concentración inicial del sustrato sobre la velocidad de una reacción catalizada enzimáticamente, en donde se mantiene constante la concentración de la enzima.

Otros factores más que pueden afectar las reacciones enzimáticas:

Presencia de inhibidores son sustancias llamadas genéricamente inhibidores, ejemplo: urea.

Agentes deasnaturalizantes, sustancias análogas al sustrato.

Presencia de moduladores alostéricos, un grupo de enzimas presentan una cinética atípica, su actividad puede aumentar o disminuir por la acción de los llamados moduladores alostéricos (otro sitio).

TEMA IV 6 USO ESTADISTICO DE LAS TECNICAS TGO(E.C.-2611) Y TGP(E.C.-2612)

TGO(E.C.-2611)

El método más utilizado de la enzima TGO(E.C.-2611) es el de la málico deshidrogenasa* sin desproteinizar, monitoreo discreto a la longitud de onda de 334 nm, 340 nm, 365 nm a 25°C, 30°C, 37°C.

METODO	USO (%)	C.V.
enzima (MDH/C. Fiy)	46.5	8.35
enzima (MDH/C. Fiy)	24.6	8.00
colorimetría	13.2	17.1
otro	16.7	13.6

n= 31, por los laboratorios evaluador a nivel nacional

CUADRO 4 .- Evaluación de la calidad por método analítico de la enzima TGO (E.C.-2611).

TGP(E.C.-2612)

El método más utilizado de la enzima TGP(E.C.-2612) es el de Lactato deshidrogenasa* sin desproteinizar, monitoreo discreto a la longitud de onda de 334 nm, 340 nm, 365 nm a 25°C, 30°C, 37°C.

METODO	USO (%)	C.V.
enzima (LDH/C. Fiy)	47.7	8.9
enzima (LDH/C. Fiy)	21.6	8.4
colorimetría	11.6	24.0
otro	19.1	10.3

n= 31, por los laboratorios evaluados a nivel nacional

CUADRO 5.- Evaluación de la calidad por método analítico de la enzima TGP (E.C.-2612)

*VER GLOSARIO

PECEL*.

La metodología que se utiliza en nuestro país para cuantificar diferentes análisis en los laboratorios clínicos, es útil, para la elección de los mejores métodos de análisis, lo que finalmente determina una mejor calidad analítica.

TEMA IV 7 ANALISIS ESTADISTICO*

En los análisis de varianza más formales se utilizan las fracciones "F" de cada variable conocida con respecto al resto de las variables.

El análisis de varianza (ANDEVA) cubre una amplia gama de técnicas:

El que el análisis sea apropiado depende del número de factores de la relación entre ellos y el diseño del estudio.

Análisis de varianza para diseño aleatorio:

Corrección media = CM = (total de observaciones) $\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N Y_i$
Suma de cuadrados total: $\sum_{i=1}^N Y_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^N Y_i)^2}{N} = SC$
Suma de cuadrados de los tratamientos: $\sum_{j=1}^K \frac{(\sum_{i=1}^N Y_{ij})^2}{n_j} - \frac{(\sum_{i=1}^N Y_i)^2}{N} = SCT$
Suma de cuadrados del error: $SC - SCT$
Varianza $s^2 = \frac{SC - SCT}{N - K}$
Los cuadrados medios de los tratamientos y el error son: $CMT = \frac{SCT}{K-1}$ $CME = \frac{SC - SCT}{N - K}$

TABLA 5.-Resumen de fórmulas base para la tabla de ANDEVA.

El valor crítico del estadístico "F" para alfa igual a 0.05 es 4.96 (obtenido de tablas), cuando el estadístico "F" no rebasa 4.96 no se rechaza la hipótesis nula (H₀) por lo tanto es cuando:

$$\frac{M_1 - M_2}{s} = \frac{M_3 - M_4}{s} = \frac{M_5 - M_6}{s}$$

Si se rechaza la hipótesis nula (H₀) es cuando el valor del estadístico "F" rebasa el valor de 4.96 y por lo tanto se obtiene la hipótesis alterna (H₁) que nos indica que

*VER GLOSARIO

al menos una igualdad no se cumple y que se representa de la siguiente manera:

$$M_1 \neq M_2 \neq M_3 \neq M_4 \neq M_5 \neq M_6$$

Se configura la tabla de ANDEVA:

FUENTE	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CORRECCION MEDIA	F
Tratamientos	$K-1$	SCT	CMT	CMT CME
Error	$n_t - K$	SCE	CME	
Total	$n_t - 1$	varianza		

TABLA 5.1.- TABLA ANDEVA.

CAPITULO V MATERIAL

El material y los reactivos empleados para la determinación son los siguientes:

- A) .-Estuches enzimáticos de los reactivos TGO (K.C.-2611) y TGP (K.C.-2612) manufacturados por laboratorios CIBA-CORNING.
- B) .-Caldillas de cuarzo.
- C) .-Equipo de espectrofotometría marca CLINICA-100 digital.
- D) .-Pipetas de toma de muestras de embolo automáticas.
- E) .-Puntas de polivinilo de medidas estándar a las pipetas usadas
- F) .-Material accesorio como: mesa, luz, gradillas calculadoras, papel, reloj.
- G) .-Sangre sin anticoagulante para obtener suero (sin hemólisis)

CAPITULO VI METODOS

TEMA VI.1 METODOS

1.-La necesidad de una microtécnica enzimática radica, en la mejor disposición del trabajador del laboratorio para dar un resultado veraz, eficaz y a tiempo.

2.-El trabajo se apoya con el programa de evaluación de la calidad entre laboratorios (PECEL)-PECEL/IFN/URAM.-Puedo decirse que la evaluación realizada en este trabajo de laboratorio considerando el método analítico apoyado por el trabajo de PECEL es adecuado, conveniente y útil lo que determina una mejor calidad analítica real.

Los substratos usados son:

Substrato, TGO (E.C.-2611) método enzimático (MDH/s.--Ppy).

Substrato, TGP (E.C.-2612) método enzimático (LDH/s.--Ppy).

3.-En la parte experimental se procesarán igual ambas enzimas TGO (E.C.-2611) y TGP (E.C.-2612) que se describe de la siguiente manera.

Se valorará la actividad enzimática tanto en sueros sin diluir como diluidos, que se trabajaran de la siguiente manera:

método a.-Dilución sin diluyente, solo reduciendo proporcionalmente el suero sin agregar diluyente alguno con la misma cantidad de substrato de la enzima a valorar.

método b.-Con solución salina fisiológica, como diluyente, con la misma cantidad de substrato de la enzima a valorar.

Método c.-Con agua bidestilada, como diluyente, con la misma cantidad de substrato de la enzima a valorar.

Los sueros a valorar serán los siguientes:

- A).-Suero problema (1)
- B).-Suero problema (2)
- C).-Suero TEST POINT (control 1)
- D).-Suero TEST POINT (control 2)

TEMA VI.2 PROCEDIMIENTO DEL SISTEMA ENZIMATICO PARA
TGO(E.C.-2611)

FUNDAMENTO

La transaminasa glutámico pirúvica cataliza la transferencia del grupo amino de L-aspartato a 2-oxoglutarato resultando en la formación de oxalacetato y L-glutamato.-Deshidrogenasa de malato(MDH) cataliza la reducción de oxalacetato con la oxidación simultánea de $NADH_2$ a NAD^+ .

La proporción de formación de NAD^+ , indicado por la proporción de la reducción en absorbancia a 340 nm, es directamente proporcional a la actividad de TGO(E.C.-2611). Deshidrogenasa de lactato está incluido en el reactivo para prevenir la interferencia de piruvato endógeno, el cual normalmente esta presente(en concentraciones bajas) en muestras de suero, el procedimiento de análisis de TGO(E.C.-2611) es basado en la metodología de la Federación Internacional de Química Clínica.

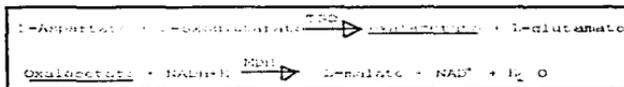


FIGURA 5.- Mecanismo químico basado en la metodología de la federación Internacional de Química Clínica para TGO(E.C.-2611).

CONTENIDO DEL REACTIVO EN CADA VIAL*

Una vez reconstituido de acuerdo a las instrucciones las concentraciones aproximadas de los ingredientes del reactivo son las siguientes:

2-oxoglutarato	15mmol/L
Aspartato de potasio(sustrato)	240 mmol/L
NADH.H	≥ 0.18 mmol/L
Deshidrogenasa de lactato(microbiana)	$\geq 600U/L$
Deshidrogenasa de malato(microbiana)	$\geq 4U/L$
Azida de sodio	0.1%
Amortiguador(Buffer), pH 7.6 a 30°C	

TABLA 5.-Ingredientes existentes en cada vial de reactivo TGO(E.C.-2611).

PRECAUCIONES AL HIDRATAR EL VIAL Y SU USO

- A).-El reactivo de TGO(E.C.-2611) es solo para diagnóstico "in vitro"
- B).-Evitar la ingestión o el contacto con la piel, la toxicidad de este reactivo no ha sido establecida.
- C).-La axida de sodio puede reaccionar con tuberías de plomo o de cobre y formar axidas metálicas altamente explosivas, al desochar, enjuagar con grandes cantidades de agua.

PREPARACION DEL REACTIVO

- A).-Reconstituir los frascos de reactivo de TGO(E.C.-2611) según sea el caso 7 ml, 14 ml, 50 ml de agua bidestilada o deionizada respectivamente.
- B).-Darle vueltas ligeramente para disolver, no agitar, dar ligeros golpes para retirar el aire contenido en el sistema.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DEL REACTIVO

- A).-El reactivo no reconstituido debe de ser almacenado, refrigerado(2-8°C) y puede ser utilizado hasta la fecha de expiración indicada en la etiqueta
- B).-El reactivo reconstituido (tapado) se mantiene estable por tres días a temperatura ambiente (18-25°C) o refrigerado por 14 días (2-8°C).

PRECAUCIONES:

Se recomienda que el reactivo no debe de usarse:

- A).- sin reconstituir, muestra oscura debido a la posible penetración de humedad.
- B).-Si se obtiene absorbancias iniciales (A/I) no aceptables.

RECOLECCION Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

Se recomienda que:

- A).-Puede utilizarse suero o plasma con (oxalato, citrato, EDTA, o heparina) son anticoagulantes aceptables.
- B).-Se debe evitar la hemólisis puesto que las células hemáticas contienen TGO(E.C.-2611).
- C).-Para análisis de TGO(E.C.-2611) se recomienda que los sueros se almacenen a -20°C, sucede una pérdida mínima de actividad; cuando la muestra permanece de (0-4°C) dura 1-3 días.

CONTROL DE CALIDAD

La veracidad de los resultados de la prueba debe ser cotejada con el uso rutinario de suero de control que contienen concentraciones conocidas de TGO(E.C.-2611).

INDIVIDUOS	H/L	NANOKATAL/LITRO
Adultos	8-20	133-333
Niños	15-60	250-1000
Recién nacidos	25-75	417-1250
Hombres mayores de 60 años	10-25	167-417
Mujeres mayores de 60 años	10-20	17-333

TABLE 7.- Valores de referencia de la enzima TGO (E.C.-2611)

Se recomienda que cada laboratorio establezca su gama normal basada en la población específica servida por el mismo.

INDIVIDUOS	37°C	30°C	25°C
Adultos	6-14	6-20	11-31
Niños	11-43	15-50	21-62
Recién nacidos	6-23	12-75	26-107
Hombres mayores de 60 años	7-18	12-45	16-39
Mujeres mayores de 60 años	7-14	10-30	16-31

TABLE 8.-Valores de referencia a diferentes temperaturas de la enzima TGO (E.C.-2611)

EL ESTUCHE ENZIMATICO CONTIENE.

-juego de reactivos para TGO (E.C.-2611)

Otro material requerido para las técnicas:

-Pipetas de precisión, tubos de ensayo y cubetas (caldillas), agua destilada o deionizada, reloj de intervalos, calculadora, y un espectrofotómetro de temperatura controlada capaz de medir absorbancias de 334 nm, 340 nm, 365 nm a 25°C, 30°C, 37°C.

PROCEDIMIENTO MANUAL

Longitud de onda	340 nm
Temperatura de reacción	25°C, 30°C, 37°C
Tiempo de incubación	60 segundos
Tiempo de lectura	60 segundos
Modalidad	absorbancia

TABLE 9.- Datos utilizados en el procedimiento para la enzima TGO (E.C.-2611)

METODOLOGIA

- Llevar el espectrofotómetro a cero con agua destilada o deionizada, en espectrofotómetros digitales se puede llegar a usar aire como blanco de reactivos.
- Llevar con pipeta 1.0 ml de reactivo a los tubos de ensayo adecuadamente marcados y a las caldillas correspondientes.
- Añadir 0.10 ml de agua, control o muestra desconocida en cada tubo de

ensayo y/o celdilla, mezclar bien y poner en marcha el reloj.

D).-Luego de incubar la muestra 45-60 segundos, a temperatura ambiente, aspirar la misma y dejarla equilibrada en la cubeta durante 15 segundos

E).-Leer la absorbancia inicial a los 60 segundos (A_{60}) y la siguiente lectura a los 120 segundos (A_{120}).

F).-Calcular el gradiente de absorbancia/minuto, restando A_{120} de A_{60} .

G).-Si el gradiente de absorbancia/minuto, es mayor de 0.290, diluir una parte de la muestra con un volumen deseado del diluyente y volverse a probar, multiplicar el resultado por el factor del volumen usado para compensar la dilución.

H).-Repetir pasos de B a G para las demás muestras.

I).-Para calcular la actividad de TGO(E.C.-2611), multiplicar el gradiente de absorbancia/minuto por el factor de la fórmula de cálculos.

CALCULOS.

$$\frac{\Delta \text{abs./min.} \times 10^3 \times 1.11}{(6.3 \times 10^3 \times 1.11 \times 1.11)} = \Delta \text{abs./min.} \times 1746 = \text{EN U/L}$$

CUADRO 6.-Fórmula para el cálculo de la actividad de la enzima TGO(E.C.-2611) en unidades/litro (U/L)

$$\frac{\Delta \text{abs./min.} \times 10^3 \times 1.11}{(6.3 \times 10^3 \times 1.11 \times 1.11)} = \Delta \text{abs./min.} \times 1746,001 = \text{nkat/L}$$

CUADRO 7.- Fórmula para el cálculo basal de la actividad de la enzima TGO(E.C.-2611) en nanokatal/litro (nKat/L)

DONDE:

Gradiente de abs = gradiente A = cambio de absorbancia.

min. = minutos

seg. = segundos

(6.3×10^3) = absorbancia molar de NADH a 340 nm $(6.3 \times 10^3 \text{ litros mol}^{-1} \text{ cm}^{-1})$

10^6 = conversión de mol a micromol.

1 = paso de lux en cm.

1.10 = volumen total de reacción en ml.

0.10 = volumen de muestra en ml

10^9 = conversión de katal a nanokatal.

1 U/L = 16.67 nkat/L (factor de conversión)

EJEMPLO: Si gradiente de Absorbancia/min = 0.058

Actividad de TGO (E.C.-2611) = U/L es: $0.058 \times 1746 = 101.2 \text{ U/L}$

Usando el factor de conversión (de U/L a nkat/L) es: $101.2 \times 16.67 = 1.687.0 \text{ U/L}$

El gradiente de absorbancia en un segundo, es poco probable de obtenerlo en

forma manual, por lo que la fórmula se modificará de la siguiente manera:

$\Delta \text{abs/min} \times 1,746,031 \times (\text{factor de corrección del tiempo}) = \text{nanokatal/L}$
Si el gradiente de abs/min = 0.058 de densidad óptica (lectura en un minuto) y este dato se agrega como un factor de conversión a la fórmula siguiente:

$$\frac{\Delta \text{abs.}}{\text{min.}} \times \frac{1 \text{ min.}}{60 \text{ seg.}} \times 1,746,031 = \Delta \text{abs/seg} \times 1,746,031 = \text{nanokatal/L}$$

Si se maneja algebraicamente se obtiene:

$$\frac{\Delta \text{abs.}}{1} \times \frac{1}{60 \text{seg.}} \times 1,746,031 = \Delta \text{abs/seg.} \times 1,746,031 = \text{nKat/L}$$

$$\frac{\Delta \text{abs.}}{60 \text{ seg.}} \times 1,746,031 = \Delta \text{abs./ seg} \times 1,746,031 = \text{nKat/L}$$

$$\frac{\Delta \text{abs.}}{1} \times \frac{1,746,031}{60 \text{seg.}} = \Delta \text{abs/seg.} \times 1,746,031 = \text{nKat/L}$$

SUSTITUYENDO VALORES EN LA FÓRMULA: para el cálculo basal de la actividad de la enzima TGO (E.C.-2611) en nanokatal/litro (nKat/L).

$$.058 \times 1,746,031 / 60 = 0.058 \times 29100.5 = 1,687.8 \text{ nkat/L}$$

$$0.058 / 60 \times 1,746,031 = 0.000966 \times 1,746,031 = 1,686.6 \text{ nkat/L}$$

PROCEDIMIENTOS ALTERNOS

15	Longitud de onda (nm)
20	Temperatura de incubación (°C)
30	Temperatura de lectura (°C)
45	Temperatura de ajuste (°C)
100	Volumen de la muestra (microlitros)
1.0	Volumen de reactivo (ml)
60	Tiempo de lectura (1 ml = 60 seg)
15	Tiempo de equilibrio para uniformar la temperatura en el
60	Tiempo de incubación a la temperatura deseada (seg)
1746	Factor obtenido de la formulación
0.8	Absorbancia inicial (A _i) base
2.0	A _i Alta
1.0	A _i Intermedia
7	Referencia normal alta (U/L a 30°C)
25	Referencia normal alta (U/L a 30°C)
1.3	A _i Aceptable de lectura
500	Linealidad (U/L a 30°C)
16.67	Factor conversión de Unidades (Sistema Internacional) a katal/L U/L x factor = 16.67 katal/L

CUADRO 8.- Procedimientos alternos para el cálculo de la actividad enzimática de la enzima TGO (E.C.-2611).

TEMA VI.3 PROCEDIMIENTO DEL SISTEMA ENZIMATICO PARA

TGP(E.C.-2612)

FUNDAMENTO

Transaminasa glutámico pirúvica cataliza la transferencia del grupo amino de L-alanina a 2-oxoglutarato resultando en la formación de piruvato y L-glutamato.

Deshidrogenasa de lactato (LDH) cataliza la reducción de piruvato con la oxidación simultánea de NADH+H a NAD⁺, la proporción de formación de NAD⁺, indicado por la reducción en absorbancia a 340 nm es directamente proporcional a la actividad de TGP(E.C.-2612).

El procedimiento de análisis de TGP(E.C.-2612) es una modificación de la metodología propuesta por la Federación Internacional de Química Clínica.

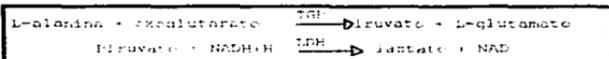


FIGURA 6.-Mecanismo químico basado en la metodología de la Federación Internacional de Química Clínica para la enzima TGP(E.C.-2612)

CONTENIDO DEL REACTIVO EN CADA VIAL

Una vez reconstituido de acuerdo a las concentración aproximada de los ingredientes del reactivo son las siguientes:

2-Oxoglutarato	10 mmol/L
L-Alanina	300mmol/L
NADH+H	6.1 mmol/L
Deshidrogenasa de lactato (animal)	≥ 600 U/L
Amortiguador (buffer) pH 7.6	

TABLA 6 bis.-Ingredientes existentes en cada vial de reactivo TGP(E.C.-2612).

PRECAUCIONES AL HIDRATAR EL VIAL Y SU USO:

- El reactivo de TGP(E.C.-2612) es sólo para diagnóstico "in vitro"
- Evitar la ingestión o el contacto con la piel
- La azida de sodio puede reaccionar con tuberías de plomo y/o de cobre y formar azidas metálicas altamente explosivas, al desechar, enjuagar con grandes cantidades de agua.

PREPARACION DEL REACTIVO

- A).-Reconstituir los frascos de reactivo de TGP(E.C.-2612) según sea el caso 7 ml, 14 ml, 50 ml de agua bidestilada o deionizada respectivamente
- B).-Darle vueltas ligeramente para disolver no agitar, dar ligeros golpes para retirar el aire contenido en el sistema.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DEL REACTIVO

- A).-El reactivo no reconstituido debe ser almacenado en refrigeración a (2-8°C) y puede ser utilizado hasta la fecha de expiración indicada en la etiqueta.
- B).-El reactivo reconstituido se mantiene estable por 8 horas a temperatura ambiente de (18-25°C) o en refrigeración por cuatro días (2-8°C)

PRECAUCIONES: Se recomienda que el reactivo no debe usarse

- A).- sin reconstituir, muestra costras debido a la posible penetración de humedad
- B).-El reactivo reconstituido, sin suero añadido tiene una absorbancia de menos de 0.900 a 340 nm

RECOLECCION Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

Se recomienda que:

- A).-Puede utilizarse suero o plasma con (oxalato, citrato, o heparina) son anticoagulantes aceptables
- B).-Se debe evitar la hemólisis puesto que las células hemáticas contienen TGP(E.C.-2612)
- C).-TGP(E.C.-2612) es estable en suero por tres días sin refrigeración, por una semana en refrigeración (2-8°C)

INTERFERENCIA.-Muestras hemolizadas no deberán ser utilizadas debido a que la concentración de TGP(E.C.-2612) en los hematies es aproximadamente 3 a 5 veces el nivel normal de suero.

CONTROL DE CALIDAD.

La veracidad de los resultados de la prueba debe ser cotejada con el uso rutinario de sueros control que contienen concentraciones de TGP(E.C.-2612) conocidas.

INDIVIDUOS	UPL	MANDESTATIN
Hombres	4-6	13-200
Mujeres	4-6	13-400

Se recomienda que cada laboratorio establezca su gama "normal" basada en la población específica servida por el mismo

TABLA 10.-Valores de referencia de la enzima TGP(E.C.-2612)

INDIVIDUOS	25°C	30°C	37°C
Hombres	6-22	8-30	12-47
Mujeres	6-20	8-28	12-44

TABLE 11.-Valores de referencia a diferentes temperaturas de la enzima TGP (E.C.-2612)

EL ESTUCHE ENZIMATICO CONTIENE.

-Juego de reactivos para TGP (E.C.-2612)

Otro Material para las técnicas:

-Pipetas de precisión tubos de ensayo y cubeta (caldillas), agua destilada o deionizada, reloj de intervalos, calculadora y un espectrofotómetro de temperatura controlada capaz de medir absorbancias de 334 nm, 340 nm, 365 nm a 25°C, 30°C, 37°C.

PROCEDIMIENTO MANUAL

Longitud de onda	340 nm.
Temperatura de reacción	25°C, 30°C, 37°C
Tiempo de incubación	60 segundos
Tiempo de lectura	60 segundos
Medida de	ABSORBANCIA

TABLE 12.-Datos utilizados en el procedimiento para la enzima TGP (E.C.-2612)

METODOLOGIA

- A) -Llevar el espectrofotómetro a cero con agua bidestilada o deionizada, en espectrofotómetros digitales se puede llegar a usar aire como blanco de reactivos.
- B) -Llevar con pipetas 1.0 ml de reactivo a los tubos de ensayo adecuadamente marcados.
- C) -Añadir 0.10 ml de agua, control o muestra desconocida en cada tubo de ensayo y poner en marcha el reloj.
- D) -Luego de incubar la muestra 45-60 minutos a temperatura ambiente, aspirar la misma y dejarla equilibrada en la cubeta durante 15 segundos.
- E) -Leer la absorbancia inicial a los 60 segundos (A_{60}) y la siguiente lectura a los 120 segundos (A_{120}).
- F) -Calcular el gradiente de absorbancia/minuto restando A_{120} de A_{60} .
- G) -Si el gradiente de absorbancia/minuto, es mayor de 0.290, diluir una parte de la muestra con un volumen deseado del diluyente y volverse a probar, multiplicar el resultado por el factor del volumen usado para compensar la dilución.

H) .-repetir los pasos B a G para las demás muestras

I) .-Para calcular la actividad de TGP(E.C.-2612) , multiplicar el gradiente de absorvancia/minuto por el factor de la formula de cálculos

LIMITACIONES

Variedad de condiciones de salud afectan los niveles de TGP (E.C.-2612) en la sangre.-Por esta razón, diferentes diagnósticos pueden depender de la interpretación de la prueba.

El reactivo para TGP(E.C.-2612) es lineal hasta 500 U/L (8,335 nanoKatal/L)

CALCULOS:

Ver la técnica para TGO(E.C.-2611),sección de cálculos,hoja numero: 30

PROCEDIMIENTOS ALTERNOS:

Ver la técnica para TGO(E.C.-2611) sección de procedimientos,hoja numero:31

TEMA VI.4 FACTORES DE CORRECCION PARA AJUSTAR LAS DILUCIONES EN EL USO DE LAS ENZIMAS TGO(E.C.-2611) Y TGP(E.C.-2612).

Factores de corrección que son agregados para ajustar la fórmula de actividad enzimática en cada una de las diluciones realizadas en los métodos propuestos.

Para obtener la actividad enzimática de las enzimas en U/L, se usará la fórmula puesta en la sección de cálculos de la actividad enzimática para TGO(E.C.-2611) y/o TGP(E.C.-2612).

En los métodos donde hay dilución de suero, se harán las modificaciones necesarias y se les darán los nombres siguientes a los factores de corrección:

- A).-Cálculo por "factor por volumen"
- B).-Cálculo por "factor por diluciones"
- C).-Los cálculos de las muestras que no se diluyen se usará la fórmula sin modificar.

$\frac{\Delta \text{ Abs}}{\text{min.}}$	×	10^6	$\frac{\mu\text{mol}}{\text{mol}}$	×	1.1 ml	} "FORMULA ORIGINAL"
6.3×10^{-3}	×	1 cm	×	1.1 ml		
$\frac{\Delta \text{ abs.}}{\text{min}}$	×	$\frac{\mu\text{mol}}{\text{mol}}$	×	ml	} "SOLO UNIDADES"	
$\frac{L}{\text{mol cm}}$	×	cm	×	ml		
$\frac{\Delta \text{ abs } \mu\text{mol ml mol cm}}{\text{min mol } \cancel{\text{cm}} \cancel{\text{ml}}} = \frac{\Delta \text{ abs } \mu\text{mol}}{\text{min L}} = \Delta \text{ abs/min } (\mu\text{mol/L})$						
$\text{abs/min}(\mu\text{mol/L}) = \text{U/L}$						

CUADRO 9.-Formulación base y de apoyo para obtener los factores de corrección.

se trabaja algebraicamente la fórmula:

$$\frac{\text{abs/min}}{6.3 \times 10^3} \times \frac{10^6}{1} \times \frac{1.10}{0.10} = \text{abs/min} \times 1746 = U/L$$

$$\text{abs/min} \times 158.73 \times \frac{1.10}{0.10} = \text{abs/min} \times 1746 = U/L$$

$$\text{abs/min} \times 158.73 \times \text{"FACTOR DE CORRECCION"} = \text{abs/min} \times 1746 = U/L$$

CUADRO 10.-Obtención de la fórmula donde se relaciona el "FACTOR DE CORRECCION"
 El factor de correlación dependiendo el proceso se llamará "factor por volumen"
 o "factor por dilución".

A).- FORMULA POR....."FACTOR POR VOLUMEN"

$$\Delta \text{ abs/min} \times 158.73 \times \text{FACTOR POR VOLUMEN} = \Delta \text{ ABS/MIN} \times 158.73 \times F = U/L$$

DONDE:

Gradiente de abs/min "NO" se modificará
 min "NO" se modificará
 10^6 "NO" se modificará
 6.3×10^3 "NO" se modificará
 1 "NO" se modificará
 1.10 "SI" se modificará
 0.10 "SI" se modificará

EL CALCULO BASAL:

suero = 0.1 ml volumen total = 1.1 ml

$$\Delta \text{ abs/min} (158.73) (1.1/0.1) = \Delta \text{ abs/min} \times (1746)$$

Se modificarán los volúmenes de suero usado en cada uno de los cálculos y se obtendrán diferentes factores dependiendo la dilución.

$$\text{suero} = 0.09 \text{ ml} \quad \text{volumen total} = 1.09 \text{ ml}$$
$$\Delta_{\text{abs/min}}(158.73) (1.09/0.09) = \Delta_{\text{abs/min}} \times 1922.39$$

$$\text{suero} = 0.08 \text{ ml} \quad \text{volumen total} = 1.08 \text{ ml}$$
$$\Delta_{\text{abs/min}}(158.73) (1.08/0.08) = \Delta_{\text{abs/min}} \times 2142.85$$

$$\text{suero} = 0.07 \text{ ml} \quad \text{volumen total} = 1.07 \text{ ml}$$
$$\Delta_{\text{abs/min}}(158.73) (1.07/0.07) = \Delta_{\text{abs/min}} \times 2426.3$$

$$\text{suero} = 0.06 \text{ ml} \quad \text{volumen total} = 1.06 \text{ ml}$$
$$\Delta_{\text{abs/min}}(158.73) (1.06/0.06) = \Delta_{\text{abs/min}} \times 2804.2$$

$$\text{suero} = 0.05 \text{ ml} \quad \text{volumen total} = 1.05 \text{ ml}$$
$$\Delta_{\text{abs/min}}(158.73) (1.05/0.05) = \Delta_{\text{abs/min}} \times 333.3$$

$$\text{suero} = 0.04 \text{ ml} \quad \text{volumen total} = 1.04 \text{ ml}$$
$$\Delta_{\text{abs/min}}(158.73) (1.04/0.04) = \Delta_{\text{abs/min}} \times 4126.98$$

$$\text{suero} = 0.03 \text{ ml} \quad \text{volumen total} = 1.03 \text{ ml}$$
$$\Delta_{\text{abs/min}}(158.73) (1.03/0.03) = \Delta_{\text{abs/min}} \times 5449.7$$

$$\text{suero} = 0.02 \text{ ml} \quad \text{volumen total} = 1.02 \text{ ml}$$
$$\Delta_{\text{abs/min}}(158.73) (1.02/0.02) = \Delta_{\text{abs/min}} \times 8095.2$$

$$\text{suero} = 0.01 \text{ ml} \quad \text{volumen total} = 1.01 \text{ ml}$$
$$\Delta_{\text{abs/min}}(158.73) (1.02/0.01) = \Delta_{\text{abs/min}} \times 16031.7$$

Resumen de factores por volumen:

SUERO	Δ ABS/MIN X FACTOR
0.01	FACTOR = 16031.7
0.02	FACTOR = 8098.2
0.03	FACTOR = 5448.2
0.04	FACTOR = 4126.98
0.05	FACTOR = 3233.3
0.06	FACTOR = 2804.2
0.07	FACTOR = 2426.2
0.08	FACTOR = 2142.88
0.09	FACTOR = 1922.36
0.10	FACTOR = 1746

CUADRO 11.-Resumen de factor por volumen obtenidos dependiendo la dilución usada.

B: --FORMULA POR.....FACTOR POR DILUCION:

$$\Delta \text{ abs/min X } 158.73 \text{ X FACTOR POR DILUCION} = \Delta \text{ abs/min X } 158.73 \text{ X F} = \text{U/L}$$

En este caso solo se agregará al volumen de cambio del suero usado. .

EL CALCULO BASAL:

suero =0.1 ml volumen total =1.1 ml

$$\Delta \text{ abs/min}(158.73) (1.1/0.1) = \Delta \text{ abs/min X}(1746)$$

Se modificarán los volúmenes de suero usado en cada uno de los cálculos y se obtendrán diferentes factores dependiendo la dilución.

suero 0.09 ml volumen total 1.1 ml

$$\Delta \text{ abs/min X } 158.73 \text{ X } (1.1/0.09) = \Delta \text{ abs/min X } 1940$$

suero 0.08 ml volumen total 1.1 ml

$$\Delta \text{ abs/min X } 158.73 \text{ X } (1.1/0.08) = \Delta \text{ abs/min X } 2182.5$$

suero 0.07 ml volumen total 1.1 ml

$$\Delta \text{ abs/min X } 158.73 \text{ X } (1.1/0.07) = \Delta \text{ abs/min X } 2494.3$$

suero 0.06 ml volumen total 1.1 ml

$$\Delta \text{ abs/min X } 158.73 \text{ X } (1.1/0.06) = \Delta \text{ abs/min X } 2910$$

suero 0.05 ml volumen total 1.1 ml
 $\Delta \text{abs/min} \times 158.73 \times (1.1/0.05) = \boxed{\Delta \text{abs/min} \times 3492}$

suero 0.04 ml volumen total 1.1 ml
 $\Delta \text{abs/min} \times 158.73 \times (1.1/0.04) = \boxed{\Delta \text{abs/min} \times 4365}$

suero 0.03 ml volumen total 1.1 ml
 $\Delta \text{abs/min} \times 158.73 \times (1.1/0.03) = \boxed{\Delta \text{abs/min} \times 5820}$

suero 0.02 ml volumen total 1.1 ml
 $\Delta \text{abs/min} \times 158.73 \times (1.1/0.02) = \boxed{\Delta \text{abs/min} \times 8730}$

suero 0.01 ml volumen total 1.1 ml
 $\Delta \text{abs/min} \times 158.73 \times (1.1/0.01) = \boxed{\Delta \text{abs/min} \times 1740}$

Resumen de factores por dilución:

SUERO	$\Delta \text{ABS/MIN} \times \text{FACTOR}$
0.01	FACTOR = 17460
0.02	FACTOR = 8730
0.03	FACTOR = 5820
0.04	FACTOR = 4365
0.05	FACTOR = 3492
0.06	FACTOR = 2910
0.07	FACTOR = 2492.3
0.08	FACTOR = 2160.5
0.09	FACTOR = 1940
0.10	FACTOR = 1746

CUADRO 12.-Resumen de los factores por dilución obtenidos dependiendo la dilución usada.

CAPITULO VII RESULTADOS DE LA ENZIMA TGO(E.C.-2611).

Se valorará la actividad enzimática tanto en suero diluidos como no diluidos que se trabajaran de la siguiente manera:

Método A) .-Dilución sin diluyente*:

Solo reduciendo proporcionalmente el suero sin agregar diluyente alguno con la misma cantidad de sustrato de la enzima a tratar TGO(E.C.-2611).

Método B) .-Dilución con solución salina fisiológica:

Como diluyente con la misma cantidad de sustrato de la enzima a tratar TGO(E.C.-2611).

Método C) .-Dilución con agua bidestilada:

Como diluyente con la misma cantidad de sustrato de la enzima a tratar TGO(E.C.-2611).

Los sueros a valorar serán los siguientes:

- A) .-Suero problema 1
- B) .-Suero problema 2
- C) .-Suero test point (control 1)
- D) .-Suero test point (control 2)

En el trabajo rutinario de un hospital se valoran diariamente muchos sueros de enfermos y del cual solo se tomo los sueros arriba indicados para poder considerar la hipotesis que se da en esta tesis.

*Dilución sin diluyente.-Es solo la reducción del suero proporcionalmente sin el uso de diluyente, éste término se usa para no perder la esencia del objetivo de la dilución usada en los métodos subsecuentes en la que si son una verdadera dilución.

DETERMINACION ENERGETICA DE LA ENZIMA O SUBSTRATO: IGO (E.C.-2611)																							
TIPO DE FUERO VALGRADO:				FUERO FRECUENCIA (f)				DILUYENTE:				SOLUCION SALINA FISIOLOGICA				D. O. A							
MÉTODO MICROTRONICA ENERGETICA		SI		SI		SI		SI		SI		SI		SI		SI							
MÉTODO TRADICIONAL ENERGETICA		NO		NO		NO		NO		NO		NO		NO		NO							
CANTIDAD DE FUERO ml		0.01		0.01		0.04		0.06		0.08		0.10		0.0		0.0							
CANTIDAD DE SUBSTRATO ml		1.0		1.0		1.0		1.0		1.0		1.0		1.0		1.0							
CANTIDAD DE DILUYENTE ml		0.09		0.08		0.06		0.04		0.02		0.00		0.00		0.00							
LECTURA EN ABSORCIENCIA		SI		SI		SI		SI		SI		SI		SI		SI							
GRADIENTE EE abs/min		SI		SI		SI		SI		SI		SI		SI		SI							
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L		---		16032		8095		4127		2604		2143		1746		---							
FACTOR POR DILUICION EN U/L		---		17462		6730		4365		2910		2183		1366		---							
LECTURA 1.0		1.893		1.859		1.909		1.925		1.862		1.862		1.844		---							
LECTURA 1.5		0.876 0.023 369 402		0.843 0.034 275 297		0.875 0.062 256 271		0.862 0.109 306 317		0.792 0.135 289 295		0.763 0.156 272 272		---		---							
LECTURA 2.0		0.860 0.079 465 506		0.825 0.035 283 306		0.847 0.060 249 262		0.811 0.103 289 300		0.727 0.130 279 284		0.688 0.153 267 267		---		---							
LECTURA 2.5		0.850 0.076 417 484		0.828 0.034 275 297		0.815 0.064 264 276		0.759 0.104 297 308		0.642 0.132 283 289		0.610 0.161 261 261		---		---							
LECTURA 3.0		0.834 0.071 337 367		0.791 0.028 227 244		0.783 0.068 261 297		0.705 0.112 314 326		0.595 0.137 294 299		0.527 0.168 285 293		---		---							
LECTURA 3.5		0.820 0.016 257 278		0.780 0.035 283 305		0.747 0.061 252 266		0.647 0.104 292 303		0.525 0.134 287 292		0.442 0.166 290 290		---		---							
LECTURA 4.0		0.816 0.017 273 297		0.756 0.041 332 359		0.722 0.056 231 244		0.601 0.107 300 311		0.461 0.138 296 301		0.341 0.172 300 300		---		---							
LECTURA 4.5		0.812 0.016 257 278		0.739 0.030 243 262		0.691 0.065 269 284		0.540 0.107 300 311		0.387 0.139 296 301		0.270 0.184 321 321		---		---							
LECTURA 5.0		0.802 0.017 273 297		0.724 0.028 227 262		0.657 0.079 301 319		0.494 0.104 306 317		0.323 0.144 309 314		0.177 0.193 320 320		---		---							
LECTURA 5.5		1.795		1.711		1.618		1.431		1.245		1.087		---		---							
GRADIENTE MEDIO abs/min		0.020		0.033		0.064		0.109		0.136		0.168		---		---							
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L MEDIO		331		268		263		300		292		293		---		---							
FACTOR POR DILUICION EN U/L MEDIO		360		297		278		312		297		293		---		---							

TABLA 14.- TABLA EXPERIMENTAL DE LA ENZIMA IGO (E.C.-2611) CON SUSTRATO FRECUENCIA 1°; METODOS CON SOLUCION SALINA FISIOLOGICA EN CADA FUERO DILUIDO

		DETERMINACION ENZIMATICA DE LA ENZIMA O SUBSTRATO: PGO (E.C. 2.611)																							
TIPO DE SIEMBRA VALORADO:		SIEMBRA PROBLEMA (1)						DILUYENTE: AGUA BIDENTIFICADA																	
		SI		SI		SI		SI		SI		SI		SI											
Método MICROTECNICA ENZIMATICA		SI		SI		SI		SI		SI		SI		SI											
Método TRADICIONAL ENZIMATICA		SI		SI		SI		SI		SI		SI		SI											
CANTIDAD DE SIEMBRA ml		0.01		0.02		0.04		0.06		0.08		0.10		0.10											
CANTIDAD DE SUBSTRATO ml		0.0		0.0		0.0		0.0		0.0		0.0		0.0											
CANTIDAD DE DILUYENTE ml		0.08		0.08		0.06		0.04		0.02		0.02		0.02											
LECTURA EN ABSORVANCIA		SI		SI		SI		SI		SI		SI		SI											
GRADIENTE DE abs/min		SI		SI		SI		SI		SI		SI		SI											
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L		16033		8095		4127		2804		2143		1716		1716											
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L		17465		8730		4365		2910		2183		1746		1746											
LECTURA 1.0		0.974		0.910		0.875		0.808		0.844		0.844		0.844											
LECTURA 1.5		0.894	0.823	349	402	1.883	0.041	332	358	1.878	0.041	277	282	1.817	0.109	306	317	1.818	0.135	269	295	1.763	0.156	272	272
LECTURA 2.0		0.875	0.829	485	484	1.863	0.044	344	384	1.843	0.042	256	271	1.764	0.103	289	300	1.753	0.130	279	284	1.689	0.153	267	267
LECTURA 2.5		1.865	0.031	497	541	1.839	0.045	344	393	1.816	0.043	260	275	1.714	0.104	297	308	1.698	0.133	289	290	1.610	0.161	281	281
LECTURA 3.0		1.844	0.032	513	559	1.818	0.043	348	375	1.780	0.042	256	271	1.660	0.112	314	324	1.621	0.137	294	299	1.527	0.146	293	293
LECTURA 3.5		1.833	0.017	273	297	1.796	0.044	356	84	1.754	0.044	264	279	1.602	0.104	294	303	1.551	0.134	287	292	1.442	0.164	290	290
LECTURA 4.0		1.827	0.016	257	279	1.774	0.041	332	358	1.716	0.046	272	288	1.556	0.107	300	311	1.487	0.138	286	301	1.361	0.172	300	300
LECTURA 4.5		1.817	0.017	273	297	1.755	0.042	340	367	1.688	0.059	243	258	1.495	0.107	300	311	1.413	0.138	296	301	1.270	0.184	321	321
LECTURA 5.0		1.810	0.014	224	244	1.732	0.046	372	402	1.657	0.066	272	288	1.449	0.109	306	317	1.349	0.144	309	314	1.177	0.193	320	320
LECTURA 5.5		1.803	---	---	---	1.709	---	---	---	1.622	---	---	---	1.386	---	---	---	1.269	---	---	---	1.087	---	---	---
GRADIENTE MEDIO abs/min		0.022		0.043		0.064		0.107		0.136		0.168		0.198		0.232		0.269		0.308		0.348		0.388	
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L MEDIO		359		350		283		301		292		283		273		263		253		243		233		223	
FACTOR POR DILUICION EN U/L MEDIO		384		378		278		312		297		283		273		263		253		243		233		223	

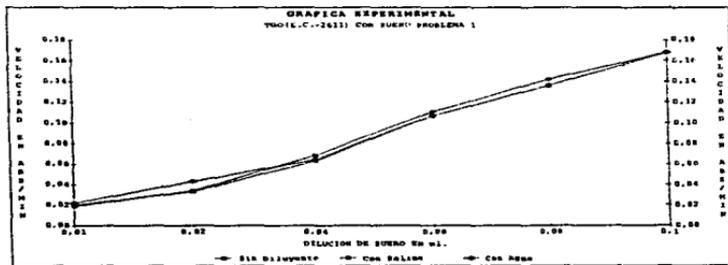
TABLA 15.- TABLA ESSENCIAL DE LA ENZIMA PGO (E.C. 2.611) CON SIEMBRA PROBLEMA 1: METODOS TRADICIONAL Y MICROTECNICA EN AGUA BIDENTIFICADA EN CADA SIEMBRA DILUIDA

"SUERO PROBLEMA 1" se integra las velocidades iniciales de los tres métodos realizados con enzima TGO (E.C.-2611):

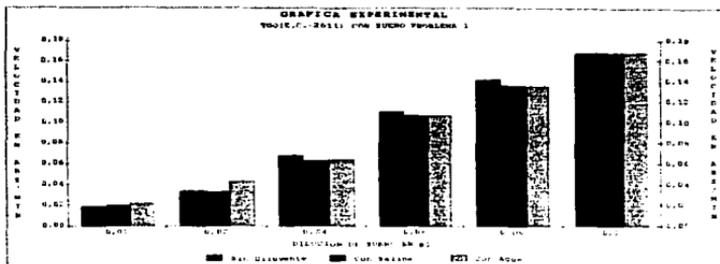
DILUCION DE SUERO	SIN DILUYENTE	CON SALINA	CON AGUA
0.01	0.019	0.020	0.022
0.02	0.034	0.033	0.043
0.03	-----	-----	-----
0.04	0.066	0.063	0.064
0.05	-----	-----	-----
0.06	0.111	0.107	0.107
0.07	-----	-----	-----
0.08	0.142	0.0136	0.0236
0.09	-----	-----	-----
0.10	0.0166	0.166	0.016

TABLA 16.-Datos de velocidades iniciales, de los tres métodos trabajados y de cada una de las diluciones usadas, de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero problema 1"

Los valores registrados en la tabla 16 se graficará en el siguiente paso.



GRAFICA 9.-Se integran los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de líneas, de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero problema 1".



GRAFICA 9 bis.—Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales de la gráfica de Latour, de la ensima T00(E.C.-2611) con "suero problema 1"

datos estadísticos para realizar la técnica de **ANALISIS DE VARIANZA (ANDEVA)**

MÉTODO DILUCION SIN DILUYENTE		MÉTODO DILUCION CON SALINA		MÉTODO DILUCION CON AGUA	
FACTOR DE DILUCION	FACTOR DE VOLUMEN	FACTOR DE DILUCION	FACTOR DE VOLUMEN	FACTOR DE DILUCION	FACTOR DE VOLUMEN
250	30	250	30	250	30
250.5	270	251.5	260	270	250
250	260	270	160	270	260
250	210	270	300	210	300
300	300	290	290	290	290
290	290	290	290	290	290
F_1	F_2	F_3	F_4	F_5	F_6
1600.5	170	1000	1700	1000	1000
$\frac{1600.5}{6}$	$\frac{170}{6}$	$\frac{1000}{6}$	$\frac{1700}{6}$	$\frac{1000}{6}$	$\frac{1000}{6}$
300.6	294.1	300.25	291	321.5	300.0

CUADRO 13.—Resumen de datos de análisis estadístico clasificados para efectuar la siguiente tabla andeva, de la enzima T00(E.C.-2611) con "suero problema 1"

Se configura tabla de **ANALISIS DE VARIANZA (ANDEVA)**

FUENTE	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CORRECCION MEDIA	F
TRATAMIENTOS	$K-1 = 5$	$\sum (X_i - \bar{X})^2 = 2422.6$	$\frac{2422.6}{5} = 484.52$	
Error	$N - K = 20$	$\sum (X_{ij} - \bar{X}_i)^2 = 1000$	$\frac{1000}{20} = 50$	$\frac{484.52}{50} = 9.69$
TOTAL	$N - 1 = 25$	$\sum (X_{ij} - \bar{X})^2 = 3422.6$		

TABLA 10.—Tabla de "ANDEVA", donde se obtiene el valor del estadístico "F" de la enzima T00(E.C.-2611) con "suero problema 1".

DETERMINACION ENZIMATICA DE LA ENZIMA O SUBSTRATO: TOR (E.C.-2611)																									
TIPO DE SUERO VALGRADO: SUERO PROBLEMA (?)				DILUYENTE: SIN DILUYENTE (SULO REDUCIDOS SUERO)																					
METODO MICROTECNICA ENZIMATICA	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI														
METODO TRADICIONAL ENZIMATICA	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI														
CANTIDAD DE SUERO ml	0.01	0.02	0.04	0.06	0.08	0.10																			
CANTIDAD DE SUBSTRATO ml	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0																			
CANTIDAD DE DILUYENTE ml	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00																			
LECTURA EN ARMONIZACION	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI														
RADIENTE EN abs/min	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI														
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L	1.498	16032	2.439	6095	4127	2804	2143	1746																	
FACTOR POR DILUICION EN U/L	1.498	17460	8730	4057	4365	2404	2910	3396	2183	3397	1746														
LECTURA 1.0'	1.425	0.002	32	35	1.431	0.005	45	44	1.432	0.007	37	39	1.393	0.014	39	41	1.378	0.014	35	31	1.391	0.015	26	26	
LECTURA 1.5'	1.426	0.002	32	35	1.434	0.016	49	50	1.398	0.007	29	31	1.385	0.009	29	26	1.372	0.015	32	33	1.382	0.018	31	34	
LECTURA 2.0'	1.425	0.001	16	17	1.431	0.023	24	26	1.395	0.005	21	22	1.384	0.012	34	35	1.363	0.016	34	35	1.373	0.019	33	33	
LECTURA 3.0'	1.425	0.001	16	17	1.431	0.021	9	9	1.393	0.007	29	31	1.378	0.010	29	29	1.356	0.017	26	26	1.363	0.016	26	26	
LECTURA 3.5'	1.424	0.002	32	35	1.430	0.023	24	26	1.396	0.008	33	35	1.374	0.019	50	52	1.350	0.013	26	26	1.357	0.015	26	26	
LECTURA 4.0'	1.422	0.002	32	35	1.428	0.003	24	26	1.385	0.007	29	31	1.365	0.013	31	32	1.349	0.013	29	29	1.348	0.019	33	33	
LECTURA 4.5'	1.422	0.002	32	35	1.427	0.005	45	44	1.381	0.007	29	31	1.363	0.004	11	12	1.337	0.013	26	26	1.338	0.016	26	26	
LECTURA 5.0'	1.421	0.002	32	35	1.423	0.004	32	35	1.378	0.007	29	31	1.358	0.012	34	35	1.330	0.013	29	29	1.332	0.014	24	24	
LECTURA 5.5'	1.410	---	1.423	---	1.374	---	1.351	---	1.324	---	1.324	---	1.324	---	1.324	---	1.324	---	1.324	---	1.324	---	1.324	---	1.324
RADIENTE MEDIO abs/min	0.232	---	0.004	---	0.037	---	0.011	---	0.014	---	0.011	---	0.014	---	0.014	---	0.014	---	0.014	---	0.011	---	0.011	---	0.011
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L MEDIO	28	---	30	---	30	---	30	---	32	---	32	---	32	---	32	---	32	---	32	---	32	---	32	---	32
FACTOR POR DILUICION EN U/L MEDIO	31	---	33	---	31	---	31	---	32	---	32	---	32	---	32	---	32	---	32	---	32	---	32	---	32

TABLA 18.- TABLA EXPERIMENTAL DE LA ENZIMA TOR (E.C.-2611) CON SUERO DE SUERO 27 METODOS SIN DILUYENTE, COMO REDUCIDOS LA CANTIDAD DE SUERO EN CADA SUERO DILUYENTE

		DETERMINACION ENIMATICA DE LA ENZIMA O SUBSTRATO: (POPE, C.-2611)															
TIPO DE SUERO VALORADO:		SUERO PROBLEMA (P)				DILUYENTE:				SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA				0.9 %			
METODO MICROTECNICA ENIMATICA	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
METODO TRADICIONAL ENIMATICA	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
CANTIDAD DE SUERO ml	0.01	0.01	0.01	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.10
CANTIDAD DE SUBSTRATO ml	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
CANTIDAD DE DILUYENTE ml	0.09	0.09	0.09	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.00
LECTURA EN ABSORVANCIA	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
GRADIENTE DE abs/min	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L	---	16532	---	8035	---	4127	---	2804	---	2143	---	1746	---	---	---	---	---
FACTOR POR DILUCION EN U/L	---	17460	---	8730	---	4365	---	2910	---	2183	---	1746	---	---	---	---	---
LECTURA 1.0	0.214	---	0.233	---	0.252	---	0.265	---	0.268	---	0.268	---	0.268	---	0.268	---	0.268
LECTURA 1.5	0.213 0.002	32 35	0.230 0.005	40 44	0.249 0.005	21 22	0.280 0.011	31 32	0.302 0.013	28 28	0.391 0.015	26 26	---	---	---	---	---
LECTURA 2.0	0.212 0.002	32 35	0.228 0.005	40 44	0.247 0.009	37 35	0.274 0.011	31 32	0.375 0.013	29 28	0.382 0.018	31 31	---	---	---	---	---
LECTURA 2.5	0.211 0.003	48 52	0.225 0.005	49 52	0.241 0.009	37 39	0.270 0.010	28 29	0.369 0.012	26 26	0.373 0.019	33 33	---	---	---	---	---
LECTURA 3.0	0.211 0.001	16 17	0.222 0.005	40 44	0.238 0.008	33 35	0.264 0.011	31 32	0.363 0.013	28 28	0.363 0.016	28 28	---	---	---	---	---
LECTURA 3.5	0.210 0.002	32 35	0.220 0.004	32 35	0.233 0.009	37 39	0.259 0.011	31 32	0.356 0.014	31 31	0.357 0.015	26 26	---	---	---	---	---
LECTURA 4.0	0.209 0.002	32 35	0.218 0.004	32 35	0.229 0.007	29 31	0.253 0.010	28 29	0.349 0.014	31 31	0.348 0.019	33 33	---	---	---	---	---
LECTURA 4.5	0.208 0.001	16 17	0.216 0.004	37 35	0.226 0.007	29 31	0.248 0.009	25 26	0.342 0.014	31 31	0.338 0.016	28 28	---	---	---	---	---
LECTURA 5.0	0.208 0.001	1 17	0.214 0.004	32 35	0.222 0.007	29 31	0.244 0.009	25 26	0.335 0.014	31 35	0.332 0.014	24 24	---	---	---	---	---
LECTURA 5.5	0.207	---	0.212	---	0.219	---	0.239	---	0.328	---	0.324	---	---	---	---	---	---
GRADIENTE MEDIO abs/min	---	0.002	---	0.005	---	0.008	---	0.010	---	0.013	---	0.017	---	---	---	---	---
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L MEDIO	---	28	---	37	---	31	---	28	---	29	---	29	---	---	---	---	---
FACTOR POR DILUCION EN U/L MEDIO	---	---	---	41	---	---	---	30	---	---	---	29	---	---	---	---	---

TABLA 19. TABLA EXPERIMENTAL DE LA ENZIMA (POPE, C.-2611) CON SUERO PROBLEMA Y CON SUERO CON SOLUCION, SALINA FISIOLÓGICA EN CADA SUERO DILUIDO

TIPO DE SUERO VALORADO:		DETERMINACION ENIMATICA DE LA ENZIMA O SUBSTRATO:				IGU(E.C. 2411)							
		SUERO FRESCA (2)		DILUYENTE:		AGUA BINESTILLADA							
METODO MICROTECNICA ENIMATICA	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	
METODO TRADICIONAL ENIMATICA	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	
UNIDAD DE SUERO ml	0.01	0.01	0.04	0.04	0.04	0.04	0.08	0.08	0.10	0.10	0.10	0.10	
UNIDAD DE SUBSTRATO ml	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
UNIDAD DE DILUYENTE ml	0.09	0.09	0.06	0.06	0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	
LECTURA EN ASOCIACION	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	
GRADIENTE DE abs/min	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	
FACTO R POR VOLUMEN EN U/L	16032	17466	8096	8130	4127	2804	2143	2183	1746	1746	1746	1746	
FACTO R POR DILUCION EN U/L	17466	17466	8130	8130	4365	2310	2183	1397	1746	1746	1746	1746	
LECTURA 1.0	1.213	1.233	1.253	1.247	1.247	1.247	1.247	1.247	1.247	1.247	1.247	1.247	
LECTURA 1.5	1.212 0.002 32 35	1.232 0.003 24 26	1.250 0.007 29 31	1.281 0.010 28 29	1.287 0.009 25 26	1.323 0.011 24 24	1.382 0.018 31 31	1.382 0.018 31 31	1.382 0.018 31 31	1.382 0.018 31 31	1.382 0.018 31 31	1.382 0.018 31 31	1.382 0.018 31 31
LECTURA 2.0	1.211 0.001 16 17	1.230 0.004 32 35	1.248 0.006 29 31	1.277 0.009 29 31	1.282 0.010 28 29	1.315 0.014 32 31	1.379 0.018 33 33	1.379 0.018 33 33	1.379 0.018 33 33	1.379 0.018 33 33	1.379 0.018 33 33	1.379 0.018 33 33	
LECTURA 2.5	1.210 0.002 32 35	1.228 0.005 40 44	1.242 0.007 29 31	1.273 0.009 27 27	1.273 0.008 27 27	1.303 0.011 24 24	1.357 0.016 28 28	1.357 0.016 28 28	1.357 0.016 28 28	1.357 0.016 28 28	1.357 0.016 28 28	1.357 0.016 28 28	
LECTURA 3.0	1.209 0.001 16 17	1.225 0.004 24 26	1.237 0.009 33 35	1.273 0.008 33 35	1.273 0.008 33 35	1.303 0.011 24 24	1.357 0.016 28 28	1.357 0.016 28 28	1.357 0.016 28 28	1.357 0.016 28 28	1.357 0.016 28 28	1.357 0.016 28 28	
LECTURA 3.5	1.209 0.001 16 17	1.223 0.004 24 26	1.237 0.009 33 35	1.273 0.008 33 35	1.273 0.008 33 35	1.303 0.011 24 24	1.357 0.016 28 28	1.357 0.016 28 28	1.357 0.016 28 28	1.357 0.016 28 28	1.357 0.016 28 28	1.357 0.016 28 28	
LECTURA 4.0	1.208 0.001 16 17	1.223 0.004 24 26	1.237 0.009 33 35	1.273 0.008 33 35	1.273 0.008 33 35	1.303 0.011 24 24	1.357 0.016 28 28	1.357 0.016 28 28	1.357 0.016 28 28	1.357 0.016 28 28	1.357 0.016 28 28	1.357 0.016 28 28	
LECTURA 4.5	1.208 0.002 32 35	1.222 0.002 16 17	1.229 0.009 33 39	1.262 0.010 28 28	1.262 0.010 28 28	1.287 0.015 32 33	1.338 0.016 28 28	1.338 0.016 28 28	1.338 0.016 28 28	1.338 0.016 28 28	1.338 0.016 28 28	1.338 0.016 28 28	
LECTURA 5.0	1.207 0.002 32 35	1.221 0.002 16 17	1.224 0.011 45 46	1.259 0.013 3 38	1.259 0.013 3 38	1.283 0.015 32 33	1.332 0.014 24 24	1.332 0.014 24 24	1.332 0.014 24 24	1.332 0.014 24 24	1.332 0.014 24 24	1.332 0.014 24 24	
LECTURA 5.5	1.206	1.220	1.218	1.246	1.246	1.272	1.324	1.324	1.324	1.324	1.324	1.324	
GRADIENTE MEDIO abs/min	0.002	0.003	0.008	0.010	0.010	0.013	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	0.017	
FACTO R POR VOLUMEN EN U/L MEDIO	74	74	32	28	28	28	29	29	29	29	29	29	
FACTO R POR DILUCION EN U/L MEDIO	76	76	26	33	33	29	26	26	26	26	26	26	

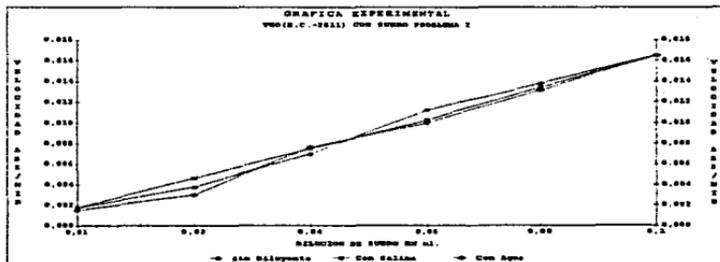
TIPO 27. - TIPO EXPERIMENTAL DE LA ENZIMA (E.C. 2411) CON SUERO FRESCA (PREPAREDOS CON EL AGUA BINESTILLADA EN CADA SUERO DILUIDO)

"SUERO PROBLEMA 2" se integra las velocidades iniciales de los tres métodos realizados con enzima TGO(E.C.-2611);

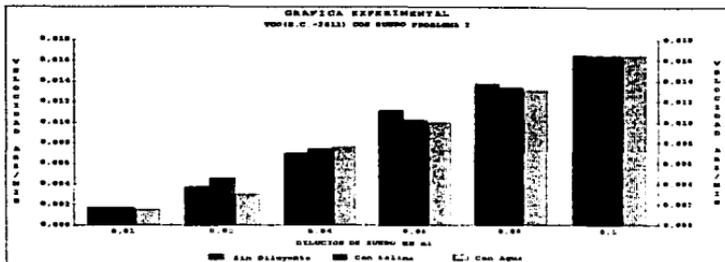
DILUCION DE SUERO	SIN DILUYENTE	CON SALINA	CON AGUA
0.01	0.00175	0.00175	0.00150
0.02	0.00375	0.00463	0.00300
0.03	-----	-----	-----
0.04	0.00700	0.00750	0.00763
0.05	-----	-----	-----
0.06	0.01125	0.01025	0.01000
0.07	-----	-----	-----
0.08	0.01375	0.01340	0.01350
0.09	-----	-----	-----
0.10	0.01550	0.01650	0.01650

TABLA 21.-Datos de velocidades iniciales, de los tres métodos trabajados y de cada una de las diluciones usadas, de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero problema 2"

Los valores registrados en la tabla 21 se graficará en el siguiente paso.



GRAFICA 10.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de líneas, de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero problema 2".



GRAFICA 10 bis.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de barras de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero problema 2"

Datos estadísticos para realizar la tabla de ANALISIS DE VARIANZA (ANDEVA)

MÉTODO DE SUEROS		MÉTODO DE SUEROS CON SALINA		MÉTODO DE SUEROS CON AGUA	
FACTOR DE DILUTION	FACTOR DE VOLUMEN	FACTOR DE DILUTION	FACTOR DE VOLUMEN	FACTOR DE DILUTION	FACTOR DE VOLUMEN
01	01	01	01	01	01
02	01	02	01	02	01
05	01	05	01	05	01
10	01	10	01	10	01
20	01	20	01	20	01
01	02	01	02	01	02
02	02	02	02	02	02
05	02	05	02	05	02
10	02	10	02	10	02
20	02	20	02	20	02
01	05	01	05	01	05
02	05	02	05	02	05
05	05	05	05	05	05
10	05	10	05	10	05
20	05	20	05	20	05
01	10	01	10	01	10
02	10	02	10	02	10
05	10	05	10	05	10
10	10	10	10	10	10
20	10	20	10	20	10
01	20	01	20	01	20
02	20	02	20	02	20
05	20	05	20	05	20
10	20	10	20	10	20
20	20	20	20	20	20

CUADRO 14.-Resumen de datos de análisis estadístico clasificados para efectuar la siguiente tabla andeva, de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero problema 2"

Se configura tabla de ANALISIS DE VARIANZA (ANDEVA)

FUENTE	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CORRECCION MEDIA	F
TRATAMIENTOS	10-1	104.16	10.416	10.416
EPROF	1-10	10.416	1.0416	1.0416
TOTAL	10-1	114.576	11.4576	11.4576

TABLA 22.-Tabla de "ANDEVA", donde se obtiene el valor del estadístico "F" de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero problema 2".

TIPO DE SUELO VALUADO:		DETERMINACION ENEMÁTICA DE LA ENHIDA O SUBSTRATO: 190(E.C.-2611)										DILUYENTE: SIM DILUYENTE (SOLO REDUCTIVO SUELO)									
TEST POINT (CONTROL 1)		SI					NO					SI					NO				
METODO MICROTECNICA ENEMÁTICA	SI																				
METODO TRADICIONAL ENEMÁTICA	NO																				
CANTIDAD DE SUELO ml	0.01	0.02					0.04					0.06					0.08				
CANTIDAD DE SUBSTRATO ml	0.0	0.0					0.0					0.0					0.0				
CANTIDAD DE DILUYENTE ml	0.00	0.00					0.00					0.00					0.00				
LECTURA EN ABSORVANCIA	SI																				
GRADIENTE DE abs/min	SI																				
"FACTOR POR VOLUEN EN U/L		16032					8595					4127					2804				
"FACTOR POR DILUCION EN U/L		17460					8730					4365					2910				
LECTURA 1.0'	0.848	1.827					0.844					0.848					0.860				
LECTURA 1.5'	0.645 0.002 32 35	0.875 0.003 24 26					0.840 0.006 25 26					0.840 0.007 20 20					0.855 0.009 19 20				
LECTURA 2.0'	0.844 0.001 16 17	0.874 0.002 16 17					0.838 0.005 21 22					0.837 0.006 17 17					0.851 0.009 19 20				
LECTURA 2.5'	0.844 0.001 16 17	0.873 0.002 16 17					0.835 0.004 17 17					0.834 0.007 20 20					0.846 0.009 19 20				
LECTURA 3.0'	0.843 0.002 32 35	0.872 0.003 24 26					0.834 0.005 21 22					0.833 0.008 22 23					0.847 0.009 19 20				
LECTURA 3.5'	0.842 0.002 32 35	0.870 0.003 24 26					0.831 0.005 21 22					0.828 0.007 20 20					0.837 0.009 19 20				
LECTURA 4.0'	0.841 0.002 32 35	0.819 0.002 16 17					0.829 0.004 17 17					0.823 0.006 17 17					0.833 0.008 17 17				
LECTURA 4.5'	0.840 0.001 16 17	0.818 0.002 16 17					0.827 0.005 21 22					0.820 0.006 17 17					0.829 0.009 19 20				
LECTURA 5.0'	0.840 0.001 16 17	0.817 0.002 16 17					0.824 0.005 21 22					0.817 0.006 17 17					0.824 0.010 21 22				
LECTURA 5.5'	0.839	0.816					0.822					0.814					0.819				
GRADIENTE MEDIO abs/min	0.002	0.002					0.009					0.007					0.009				
FACTOR POR VOLUEN EN U/L MEDIO		24					19					21					19				
FACTOR POR DILUCION EN U/L MEDIO		24					20					21					19				

TABLA 23.-TABLA EXPERIMENTAL DE LA ENHIDA (190(E.C.-2611) CON "SUELO T. F. CONTROL 1"; MÉRITOS: SIM DILUYENTE, SOLO REDUCTIVO LA CANTIDAD DE SUELO EN CADA JERO DILUO.

TIPO DE SUERO VALORADO:		LEITURACION ENIMÁTICA DE LA ENZIMA O SUBSTRATO: TGO(E.C.-2811)																																		
TEST POINT		CONTROL II					DILUENTE: SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA					0.9 %																								
METODO MICROTECNICA ENIMÁTICA	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI																							
METODO TRADICIONAL ENIMÁTICA	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO																							
CANTIDAD DE SUERO ml	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16	0.04	0.06	0.08	0.10	0.12	0.14	0.16	0.18																							
CANTIDAD DE SUBSTRATO ml	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0																							
CANTIDAD DE DILUYENTE ml	0.09	0.08	0.06	0.04	0.02	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04																							
LECTURA EN ABSORVANCIA	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI																							
GRADIENTE DE 25/30	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI																							
*FACTOR POR VOLUMEN EN U/L	---	16032	---	8006	---	4127	---	2804	---	2143	---	1746	---																							
*FACTOR POR DILUICION EN U/L	---	---	17460	---	8730	---	4365	---	2910	---	2183	---	1746																							
LECTURA 1.0	1.649	---	1.694	---	1.741	---	1.811	---	1.881	---	1.954	---	2.027																							
LECTURA 1.5	1.648	0.002	32	35	1.692	0.004	32	35	1.741	0.004	32	35	1.790	0.008	32	35	1.839	0.008	32	35	1.888	0.008	32	35	1.937	0.008	32	35	1.986	0.010	32	35	2.035	0.010	32	35
LECTURA 2.0	1.647	0.001	16	17	1.691	0.004	32	35	1.739	0.008	32	35	1.788	0.008	32	35	1.837	0.008	32	35	1.886	0.008	32	35	1.935	0.008	32	35	1.984	0.011	32	35	2.033	0.011	32	35
LECTURA 2.5	1.647	0.001	16	17	1.691	0.003	24	26	1.736	0.005	21	22	1.781	0.007	20	20	1.826	0.008	17	17	1.871	0.009	19	20	1.916	0.011	19	19	1.961	0.011	19	19	2.006	0.011	19	19
LECTURA 3.0	1.646	0.002	32	35	1.697	0.002	16	17	1.734	0.005	21	22	1.779	0.007	20	20	1.824	0.010	21	21	1.869	0.010	21	22	1.914	0.010	17	17	1.959	0.010	17	17	2.004	0.010	17	17
LECTURA 3.5	1.645	0.002	32	35	1.76	0.003	24	26	1.731	0.008	25	26	1.776	0.006	17	17	1.821	0.009	19	20	1.866	0.009	19	20	1.911	0.010	17	17	1.956	0.010	17	17	2.001	0.010	17	17
LECTURA 4.0	1.644	0.001	16	17	1.674	0.004	32	35	1.726	0.006	25	26	1.771	0.007	20	20	1.816	0.009	19	20	1.861	0.009	19	20	1.906	0.010	17	17	1.951	0.010	17	17	1.996	0.010	17	17
LECTURA 4.5	1.644	0.001	16	17	1.672	0.003	24	26	1.725	0.006	25	26	1.770	0.007	20	20	1.815	0.009	19	20	1.860	0.009	19	20	1.905	0.011	19	19	1.950	0.011	19	19	1.995	0.011	19	19
LECTURA 5.0	1.643	0.002	32	35	1.671	0.002	16	17	1.722	0.005	21	22	1.767	0.005	17	17	1.812	0.006	17	17	1.857	0.006	17	17	1.902	0.011	19	19	1.947	0.011	19	19	1.992	0.011	19	19
LECTURA 5.5	1.642	---	---	---	1.670	---	---	---	1.720	---	---	---	1.761	---	---	---	1.845	---	---	---	---	---	---	---	1.907	---	---	---	---	---	---	---	---	---		
GRADIENTE MEDIO 25/30	---	0.002	---	---	0.003	---	---	---	0.005	---	---	---	0.007	---	---	---	0.009	---	---	---	---	---	---	---	0.011	---	---	---	---	---	---	---	---			
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L MEDIO	---	---	24	---	25	---	---	---	22	---	---	---	19	---	---	---	19	---	---	---	---	---	---	---	19	---	---	---	---	---	---	---	---			
FACTOR POR DILUICION EN U/L MEDIO	---	---	26	---	27	---	---	---	23	---	---	---	19	---	---	---	19	---	---	---	---	---	---	---	19	---	---	---	---	---	---	---	---			

TABLA 24.- TABLA EXPERIMENTAL DE LA ENZIMA TGO(E.C.-2811) CON "SUERO TEST POINT CONTROL I" (MEMBRONA ENZIMICA), SALINA FISIOLÓGICA EN CADA SUERO DILUIDO

DETERMINACION EMPIRICA DE LA ENDINA O SUBSTRATO: ISO(H.C.-2611)																								
TIPO DE SUERO VALORADO:	TEST POINT (CONTROL 1)						DILUYENTE: AGUA BIPESTILADA																	
METODO MICROTECNICA ENEMATICA	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI													
METODO TRADICIONAL ENEMATICA	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO													
CANTIDAD DE SUERO ml	0.01		0.02		0.04		0.08		0.08		0.10													
CANTIDAD DE SUBSTRATO ml	1.0		1.0		1.0		1.0		1.0		1.0													
CANTIDAD DE DILUYENTE ml	0.09		0.08		0.06		0.04		0.02		0.00													
LECTURA EN ASPECUARIA	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI													
GRADIENTE VE. ml/min	---	SI	---	SI	---	SI	---	SI	---	SI	---	SI												
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L	---	---	1632	---	8295	---	4127	---	2054	---	2143	---	1746											
FACTOR POR DILUICION EN U/L	---	---	17460	---	9730	---	4865	---	2910	---	2183	---	1746											
LECTURA 1.0	0.537	---	0.595	---	0.653	---	0.693	---	0.795	---	0.954	---	---											
LECTURA 1.5	0.836	0.652	32	35	0.894	0.603	14	17	0.899	0.605	21	22	0.890	0.606	19	17	0.793	0.609	18	20	0.949	0.610	17	17
LECTURA 2.0	0.835	0.651	16	17	0.893	0.603	24	26	0.898	0.605	21	22	0.897	0.606	17	17	0.794	0.609	19	20	0.944	0.611	19	18
LECTURA 2.5	0.835	0.651	16	17	0.891	0.603	24	26	0.894	0.604	17	17	0.894	0.607	20	20	0.793	0.609	17	17	0.938	0.611	19	18
LECTURA 3.0	0.534	0.650	32	35	0.890	0.602	16	17	0.894	0.605	21	22	0.890	0.607	20	20	0.710	0.609	18	20	0.913	0.610	17	17
LECTURA 3.5	0.533	0.650	32	35	0.889	0.601	16	17	0.891	0.606	21	22	0.877	0.606	17	17	0.713	0.608	17	17	0.918	0.610	17	17
LECTURA 4.0	0.532	0.651	16	17	0.888	0.602	16	17	0.889	0.604	17	17	0.894	0.606	17	17	0.770	0.606	13	13	0.923	0.610	17	17
LECTURA 4.5	0.532	0.651	16	17	0.887	0.602	16	17	0.887	0.604	17	17	0.891	0.606	17	17	0.767	0.607	16	16	0.918	0.611	19	19
LECTURA 5.0	0.531	0.651	16	17	0.886	0.601	8	9	0.885	0.604	17	17	0.869	0.607	20	20	0.763	0.607	15	15	0.912	0.611	19	19
LECTURA 5.5	0.531	---	---	---	0.884	---	---	---	0.873	---	---	---	0.864	---	---	---	0.760	---	---	---	0.907	---	---	---
GRADIENTE MEDIO ml/min	---	0.001	---	0.002	---	0.005	---	0.006	---	0.006	---	0.008	---	0.008	---	0.008	---	---	---	---	0.011	---	---	---
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L MEDIO	---	---	22	---	17	---	19	---	18	---	17	---	18	---	17	---	---	---	---	---	19	---	---	---
FACTOR POR DILUICION EN U/L MEDIO	---	---	24	---	16	---	20	---	16	---	17	---	16	---	17	---	---	---	---	---	18	---	---	---

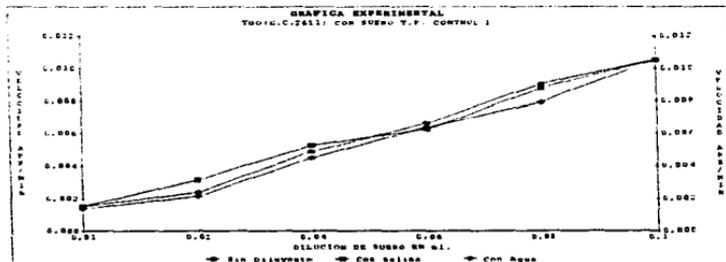
TABLA 25. TABLA EXPERIMENTAL DE LA ENDINA (ENEM. 2611) CON SUERO TEST POINT CONTROL 1 (ENEM. 2611) CON SUERO, AGUA BIPESTILADA EN CADA SUERO MEDIDO

"SUERO TEST POINT CONTROL 1" se integra las velocidades iniciales de los tres métodos realizados con enzima TGO (E.C.-2611).

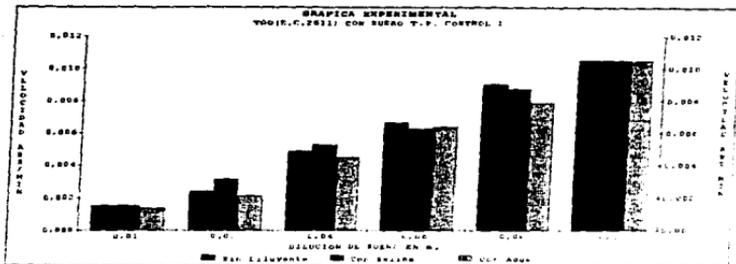
DILUCION DE SUERO	STN DILUYENTE	CON SALINA	CON AGUA
0.01	0.00150	0.00150	0.00134
0.02	0.00238	0.00313	0.00213
0.03	---	---	---
0.04	0.00444	0.00575	0.00450
0.05	---	---	---
0.06	0.00663	0.00663	0.00634
0.07	---	---	---
0.08	0.00900	0.00871	0.00786
0.09	---	---	---
0.10	0.01050	0.01050	0.01050

TABLE 26.-Datos de velocidades iniciales, de los tres métodos trabajados y de cada una de las diluciones usadas, de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero test point control 1"

Los valores registrados en la tabla 26 se graficará en el siguiente paso.



GRAFICA 11.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de líneas de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero test point control 1"



GRÁFICA 11 bis.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de barras de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero test point control 1"

Datos estadísticos para realizar la tabla de ANÁLISIS DE VARIANZA (ANDEVA)

MÉTODO DILUCION SIN DILUYENTE		MÉTODO DILUCION CON SALINA		MÉTODO DILUCION CON AGUA	
FACTOR POR DILUCION	FACTOR POR VOLUMEN	FACTOR POR DILUCION	FACTOR POR VOLUMEN	FACTOR POR DILUCION	FACTOR POR VOLUMEN
24	24	24	24	24	24
20	16	20	20	16	16
21	21	20	20	20	16
19	16	19	19	16	16
20	16	19	19	17	17
16	16	16	16	16	16
Σ	Σ	Σ	Σ	Σ	Σ
124	120	120	120	116	111
6	6	6	6	6	6
26.67	20	20	21.16	19.16	18.5

$= T_1$
 $= D_1$
 $= T_1$ $F_c = 36$

CUADRO 15.-Resumen de datos de análisis estadístico clasificados para efectuar la siguiente tabla andeva, de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero test point control 1". Se configura la tabla de ANÁLISIS DE VARIANZA (ANDEVA)

FUENTE	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CORRECCION MEDIA	F
TRATAMIENTOS	$k-1 = 5$	SCC= 50.25	CMT= 10.05	
ERRORES	$k \cdot (n-1) = 30$	SCE= 727.5	CME= 24.25	$\frac{CMT}{CME} = 1.256$
TOTAL	$k \cdot n - 1 = 35$	VARIANZA= 7.884		

TABLA 27.-Tabla de "ANDEVA", donde se obtiene el valor del estadístico "F" de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero test point control 1".

MÉTODOS		PETERSENIZACIÓN ENIMÁTICA DE LA FRUINA O SUBSTRATO: TIOLE C-2611															
TIPO DE SUERO VALORIZADO:		TEST POINT (CONTRAT 2)					DILUYENTE: SIN DILUYENTE (SOLO MENCIONANDO SUERO)										
		SI		NO			SI		NO			SI		NO			
MÉTODOS		SI		NO			SI		NO			SI		NO			
MÉTODOS TRADICIONALES ENIMÁTICA		SI		NO			SI		NO			SI		NO			
CANTIDAD DE SUERO a)		0.01		0.02		0.04		0.06		0.08		0.10					
CANTIDAD DE SUBSTRATO ml		0.0		0.0		0.0		0.0		0.0		0.0					
CANTIDAD DE DILUYENTE ml		0.00		0.00		0.00		0.00		0.00		0.00					
LECTURA EN ABSORCIÓN				SI		SI		SI		SI		SI		SI		SI	
GRADIENTE DE RPM/min			SI		SI		SI		SI		SI		SI		SI		SI
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L			14033			8095		4137		2064		1032		516		258	
FACTOR POR DILUCIÓN EN U/L			17460			8730		4365		2182		1091		545		272	
LECTURA 1.0		0.845		0.802		0.759		0.716		0.673		0.630		0.587		0.544	
LECTURA 1.5		0.841	0.037	111	122	0.817	0.009	73	79	0.793	0.016	74	75	0.789	0.009	81	84
LECTURA 2.0		0.819	0.024	96	105	0.813	0.009	13	19	0.811	0.017	72	74	0.808	0.009	81	84
LECTURA 2.5		0.835	0.006	96	105	0.849	0.010	81	87	0.813	0.017	70	74	0.844	0.030	84	87
LECTURA 3.0		0.832	0.006	96	105	0.863	0.010	81	87	0.804	0.019	78	83	0.846	0.031	87	90
LECTURA 3.5		0.819	0.005	80	87	0.856	0.010	81	87	0.844	0.019	78	83	0.833	0.030	84	87
LECTURA 4.0		0.827	0.005	80	87	0.853	0.012	87	105	0.895	0.017	70	74	0.918	0.030	84	87
LECTURA 4.5		0.824	0.005	80	87	0.846	0.012	87	105	0.877	0.017	72	74	0.903	0.030	84	87
LECTURA 5.0		0.802	0.004	74	70	0.841	0.010	81	87	0.869	0.018	74	79	0.886	0.030	84	87
LECTURA 5.5		0.820		0.816		0.859		0.873		0.892		0.907		0.922		0.946	
GRADIENTE MEDIO RPM/min			0.006			0.010		0.018		0.024		0.030		0.037		0.043	
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L MEDIO			88			83		73		64		54		44		35	
FACTOR POR DILUCIÓN EN U/L MEDIO			86			80		78		81		78		75		78	

MAPA 25.-MAPA REFERENCIAL DE LA FRUINA TIOLE C-2611 CON SUERO L. E. QUE SE EMPLEAN EN SUEROS ENIMÁTICOS, SOLO DIFERENCIANDO LA CANTIDAD DE SUERO EN CADA SUERO PUNTO

TIPO DE SUERO VALIGADO:		DIFERENCIACION ENIMATICA DE LA ENZIMA O SUBSTRATO:		TCO (E.C.-2611)		DILUYENTE:		SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA		0.9 %		
TEST POINT (CONTROL 2)		CONTROL 2)		DILUYENTE:		SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA		0.9 %				
ESTADO MICROGENICA ENIMATICA	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	
ESTADO TRADICIONAL ENIMATICA	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	
CANTIDAD DE SUERO ml	0.01	0.01	0.04	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.10	
CANTIDAD DE SUBSTRATO ml	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
CANTIDAD DE DILUYENTE ml	0.09	0.06	0.06	0.06	0.04	0.04	0.04	0.02	0.02	0.02	0.00	
LECTURA EN ABSORVANCIA	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	
GRADIENTE DE abs/min	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	
"FACTOR POR VOLUMEN" EN U/L	---	16032	---	8095	---	4127	---	2824	---	2143	---	1746
"FACTOR POR DILUCION" EN U/L	---	17460	---	8730	---	4365	---	2910	---	2193	---	1746
LECTURA 1.0"	1.711	---	1.762	---	1.866	---	1.957	---	2.057	---	2.139	---
LECTURA 1.5"	1.708 0.006 96 105	1.757 0.009 73	1.856 0.019 78	1.947 0.029 81	2.038 0.037 79	2.117 0.043 75	2.176	---	---	---	---	
LECTURA 2.0"	1.705 0.006 96 105	1.753 0.008 65	1.847 0.019 78	1.938 0.028 79	2.020 0.036 77	2.094 0.043 75 75	---	---	---	---		
LECTURA 2.5"	1.702 0.006 96 105	1.749 0.009 73	1.837 0.019 78	1.928 0.028 79	2.002 0.037 79	2.074 0.043 75 75	---	---	---	---		
LECTURA 3.0"	1.789 0.006 96 105	1.744 0.009 73	1.828 0.019 78	1.915 0.029 81	1.993 0.038 81	2.053 0.042 73 73	---	---	---	---		
LECTURA 3.5"	1.696 0.006 96 105	1.740 0.008 65	1.818 0.019 78	1.905 0.029 81	1.984 0.037 79	2.032 0.043 75 75	---	---	---	---		
LECTURA 4.0"	1.693 0.006 96 105	1.736 0.009 73	1.809 0.019 78	1.891 0.028 79	1.966 0.036 77	2.010 0.044 77 77	---	---	---	---		
LECTURA 4.5"	1.690 0.006 96 105	1.731 0.009 73	1.799 0.019 78	1.887 0.028 79	1.962 0.038 81	2.008 0.043 75 75	---	---	---	---		
LECTURA 5.0"	1.687 0.005 80 87	1.727 0.008 65	1.790 0.018 74	1.883 0.028 79	1.958 0.037 79	2.007 0.042 73 73	---	---	---	---		
LECTURA 5.5"	1.685	1.723	1.781	1.879	1.981	2.040	---	---	---	---	---	
GRADIENTE MEDIO abs/min	---	0.006	0.009	0.019	0.028	0.037	0.043	---	---	---	---	
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L MEDIO	---	94	70	78	80	79	75	---	---	---	---	
FACTOR POR DILUCION EN U/L MEDIO	---	103	76	83	82	81	75	---	---	---	---	

TABLA 29.- TABLA EXPERIMENTAL DE LA ENZIMA TCO (E.C. 2611) CON SUERO TEST POINT CONTROL 2; METODO CON SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA EN CADA SUERO DILUIDO

TIPO DE SUELO VALORADO:		DETERMINACION ENIMATICA DE LA ENZIMA O SUBSTRATO: 190(E.C.-2611)																	
TEST POINT (CONTROL 2)		DILUYENTE: AGUA BISTESTILADA																	
METODO MICROTECNICA ENIMATICA	SI	SI				SI				SI				SI					
METODO TRADICIONAL ENIMATICA	NO	NO				NO				NO				NO					
CANTIDAD DE SUELO ml	0.01	0.02				0.04				0.06				0.10					
CANTIDAD DE SUBSTRATO ml	1.0	1.0				1.0				1.0				1.0					
CANTIDAD DE DILUYENTE ml	0.09	0.08				0.06				0.04				0.02					
LECTURA EN ABSORCION	SI	SI				SI				SI				SI					
GRADIENTE DE ab/min	SI	SI				SI				SI				SI					
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L		16032				8095				4127				2604					
FACTOR POR DILUCCION EN U/L		17465				8730				4365				2910					
LECTURA 1.0	1.721	1.775				1.854				1.953				2.055					
LECTURA 1.5	1.717 R.006	96	105	2.79	0.012	97	105	1.845 R.019	78	83	1.939 R.026	75	76	2.036 R.037	76	81	2.117 R.043	75	75
LECTURA 2.0	1.715 R.006	96	105	1.763 R.012	97	105	1.835 R.018	74	79	1.927 R.023	64	67	2.018 R.036	77	79	2.095 R.043	75	75	
LECTURA 2.5	1.711 R.007	112	122	1.757 R.013	105	113	1.827 R.017	70	74	1.916 R.025	70	73	2.000 R.037	76	81	2.078 R.043	75	75	
LECTURA 3.0	1.708 R.007	112	122	1.750 R.013	105	113	1.816 R.019	76	83	1.902 R.027	76	79	1.981 R.037	76	81	2.053 R.042	75	73	
LECTURA 3.5	1.704 R.006	96	105	1.744 R.012	97	105	1.808 R.018	74	79	1.889 R.025	70	73	1.963 R.036	77	79	2.032 R.043	75	75	
LECTURA 4.0	1.702 R.005	80	87	1.738 R.012	97	105	1.800 R.017	70	74	1.877 R.025	70	73	1.945 R.037	76	81	2.016 R.044	77	77	
LECTURA 4.5	1.699 R.006	96	105	1.732 R.011	89	96	1.791 R.018	74	79	1.864 R.026	75	76	1.926 R.037	76	81	1.988 R.043	75	75	
LECTURA 5.0	1.696 R.006	96	105	1.727 R.012	97	105	1.782 R.019	76	83	1.851 R.025	70	73	1.908 R.036	77	79	1.967 R.042	75	73	
LECTURA 5.5	1.693	1.720				1.772				1.839				1.890					
GRADIENTE MEDIO ab/min		0.006				0.012				0.018				0.025					
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L MEDIO		98				98				75				71					
FACTOR POR DILUCCION EN U/L MEDIO		107				106				79				74					

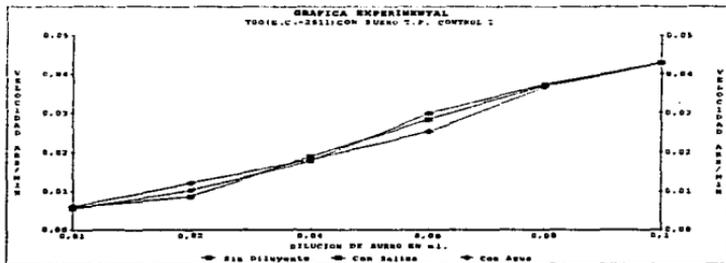
TABLA 10.- TABLA EXPERIMENTAL DE LA ENZIMA 190(E.C.-2611) CON SUELO TEST POINT CONTROL 2, METODO MICROTECNICA, AGUA BISTESTILADA EN CADA SUELO DILUIDO

"SUERO TEST POINT CONTROL 2" se integra las velocidades iniciales de los tres métodos realizados con la enzima TGO(E.C.-2611).

DILUCION DE SUERO	SIN DILUYENTE	CON SALINA	CON AGUA
0.01	0.0550	0.00588	0.00613
0.02	0.0103	0.00863	0.01213
0.03	-----	-----	-----
0.04	0.0178	0.0188	0.01813
0.05	-----	-----	-----
0.06	0.0299	0.02636	0.02525
0.07	-----	-----	-----
0.08	0.0373	0.03706	0.03663
0.09	-----	-----	-----
0.10	0.0425	0.04286	0.04286

TABLA 31.-Datos de velocidades iniciales, de los tres métodos trabajados y de cada una de las diluciones usadas, de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero test point control 2".

Los valores registrados en la tabla 31 se graficará en el siguiente paso.



GRAFICA 12.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de líneas de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero test point control 2".



GRAFICA 12 bis.-Se integra los tres metodos por los valores de **velocidades iniciales** en la grafica de buffer de la enzima **TGO(E.C.-2611)** con "suero test point control 2"

Datos estadisticos para realizar la tabla de **ANALISIS DE VARIANZA (ANDEVA)**

METODO DILUION SIN DILUYENTE		METODO DILUION CON SALINA		METODO DILUION CON AGUA	
FACTOR DILUION	FACTOR POP VOLUMEN	FACTOR DILUION	FACTOR POP VOLUMEN	FACTOR DILUION	FACTOR POP VOLUMEN
62	62	74.8	74	74	74
85.4	85	74.8	74	74	74
77.5	77	74.8	74	74	74
87	87	74.8	74	74	74
81.2	81	74.8	74	74	74
74.6	74.8	74.8	74.6	74.6	74.6
K_1	K_2	K_3	K_4	K_5	K_6
SCT=6	402.4	402.4	378.8	402.4	402.4
6	6	6	6	6	6
85.77	80.4	82.6	79.17	80.0	82.08

= T_1
= F_1 $F_2 = 36$
= T_2

CUADRO 16.-Resumen de datos de **análisis estadístico** clasificados para efectuar la siguiente tabla **andeva**, de la enzima **TGO(E.C.-2611)** con "suero test point control 2"

Se configura la tabla de **ANALISIS DE VARIANZA (ANDEVA)**

FUENTE	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CORRECCION MEDIA	F
TRATAMIENTOS	$K-1 = 5$	SCT= 194.19	CM= 38.84	$\frac{CM}{CML} = 0.35$
ERROR	$n-K = 30$	SCE= 3274.1	CME= 112.47	
TOTAL	$n-1 = 35$	varianza= 6.94		

TABLA 32.-Tabla de "ANDEVA", donde se obtiene el valor del estadístico "F" de la enzima **TGO(E.C.-2611)** con "suero test point control 2".

CAPITULO VII RESULTADOS DE LA ENZIMA TGP(E.C.-2612) .

Se valorará la actividad enzimática tanto en suero diluido como no diluido que se trabajarán de la siguiente manera:

Método A) .-Dilución sin diluyente*:

Solo reduciendo proporcionalmente el suero sin agregar diluyente alguno con la misma cantidad de sustrato de la enzima a tratar TGP(E.C.-2612).

Método B) .-Dilución, con solución salina fisiológica:

Como diluyente con la misma cantidad de sustrato de la enzima a tratar TGP(E.C.-2612).

Método c) .Dilución con agua bidestilada:

Como diluyente con la misma cantidad de sustrato de la enzima a tratar TGP(E.C.-2612).

Los sueros a valorar serán los siguientes:

- A) .-Suero problema 1
- B) .-Suero problema 2
- C) .-Suero test point (control 1)
- D) .-Suero test point (control 2)

En el trabajo rutinario de un hospital se valoran diariamente muchos sueros de enfermos y del cual solo se tomo los sueros arriba indicados para poder considerar la hipotesis que se da en esta tesis.

*Dilución sin diluyente.-Es solo la reducción del suero proporcionalmente sin el uso de diluyente, este termino se usa para no perder la esencia del objetivo de la dilución usada en los métodos subsecuentes en la que si son una verdadera dilución.

TIPO DE FUERO VALORADO:		DETERMINACION DINAMICA DE LA PRIMA O SUBTRAYO: TGF (E.C.-7412)														
		FUERO PROBLEMA (1)				DILUYENTE:				SIN DILUYENTE (SOLA RESCINDO FUERO)						
METODO MICROTECNICA DINAMICA	SI	SI				SI				SI				SI		
METODO TRADICIONAL DINAMICA	NO	NO				NO				NO				NO		
CANTIDAD DE FUERO ml	0.01	0.02				0.04				0.06				0.08		
CANTIDAD DE SUBTRAYO ml	1.0	1.0				1.0				1.0				1.0		
CANTIDAD DE DILUYENTE ml	0.00	0.00				0.00				0.00				0.00		
LECTURA EN ABSORCIENCIA	SI	SI				SI				SI				SI		
GRADIENTE DE	abs/min	SI				SI				SI				SI		
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L	---	---	16032	---	---	8096	---	---	4127	---	---	2064	---	---	1746	---
FACTOR POR DILUCION EN U/L	---	---	17460	---	---	8730	---	---	4365	---	---	2180	---	---	1746	---
LECTURA 1.0"	0.436	---	---	0.446	---	---	0.771	---	---	1.206	---	---	0.602	---	---	---
LECTURA 1.5"	0.367	0.110	2215	2109	0.325	0.243	5767	2121	0.649	0.441	880	5305	0.376	0.401	3695	3742
LECTURA 2.0"	0.298	0.136	2190	2375	0.203	0.280	2034	2161	0.832	0.410	672	3790	0.695	0.348	6564	2045
LECTURA 2.5"	0.231	0.136	2180	2375	0.075	0.289	2097	2261	0.439	0.312	2369	3367	0.410	0.125	350	364
LECTURA 3.0"	0.162	0.143	2292	2497	0.344	0.257	2083	2241	0.516	0.140	611	446	0.865	0.085	239	247
LECTURA 3.5"	0.098	0.146	2341	2540	0.416	0.248	2267	2125	0.492	0.023	110	127	0.425	0.035	98	152
LECTURA 4.0"	0.016	0.143	2374	2479	0.496	0.234	2634	2043	0.489	0.006	25	26	0.525	0.000	---	---
LECTURA 4.5"	0.046	0.143	2374	2479	0.484	0.195	2519	2102	0.484	0.003	21	22	0.525	0.000	---	---
LECTURA 5.0"	0.014	0.143	2374	2479	0.501	0.137	2069	2152	0.484	0.002	---	---	0.525	0.000	---	---
LECTURA 5.5"	0.799	---	---	0.452	---	---	---	0.464	---	0.525	---	---	0.581	---	---	---
GRADIENTE MEDIO abs/min	---	0.141	---	---	0.249	---	---	0.428	---	0.601	---	---	0.495	---	0.250	---
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L MEDIO	---	---	2254	---	---	011	---	1766	---	---	---	1605	---	0047	---	416
FACTOR POR DILUCION EN U/L MEDIO	---	---	2455	---	---	2164	---	898	---	---	---	1746	---	0047	---	436

TABLA 31.- TABLA EXPERIMENTAL DE LA PRIMA DE (E.C.-7412) EN FUNCIÓN DEL TIPO DE FUERO CON LOS VALORES DE RESCINDO LA UNIDAD DE FUERO EN CADA FUERO DETERMINADO

TIPO DE SUERO VALORADO:	DETERMINACION ENIMATICA DE LA ENZIMA O SUBSTRATO: TGP (E.C. - 2612)														
	SUERO FRESQUERA (1)					DILUYENTE:					SOLUCION SALINA FISIOLOGICA				
METODO MICROQUIMICA ENIMATICA	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
METODO TRADICIONAL ENIMATICA	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
CANTIDAD DE SUERO ml	0.01	0.02	0.04	0.06	0.10	0.04	0.06	0.08	0.10	0.10	0.08	0.10	0.10	0.10	0.10
CANTIDAD DE SUBSTRATO ml	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
CANTIDAD DE DILUYENTE ml	0.00	0.00	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
LECTURA EN ABSORVANCIA	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
GRADIENTE DE abs/min
"FACTOR POR VOLUMEN" EN U/L	...	16032	...	8095	...	4127	...	2804	...	2141	...	1716	...	1716	...
"FACTOR POR DILUCION" EN U/L	...	17460	...	8730	...	4365	...	2910	...	2141	...	1744	...	1744	...
LECTURA 1.0"	1.545	...	1.473	...	1.763	1.301	...	1.134
LECTURA 1.5"	1.405	0.126	2070	2200	0.342	0.237	2000	2156	1.031	0.458	0.882	0.959	0.967	0.612	0.716
LECTURA 2.0"	1.419	0.129	2168	2282	1.52	0.251	0.032	2191	0.805	0.411	0.646	0.794	0.689	0.378	0.062
LECTURA 2.5"	1.356	0.129	2068	2282	1.091	0.264	0.137	2305	0.620	0.285	0.176	0.214	0.585	0.113	0.311
LECTURA 3.0"	1.290	0.134	2148	2340	0.563	0.255	0.064	2276	0.520	0.112	0.462	0.489	0.578	0.207	0.20
LECTURA 3.5"	1.222	0.144	2308	2514	0.63	0.254	0.056	2217	0.508	0.015	0.62	0.65	0.578	0.004	11
LECTURA 4.0"	1.146	0.144	2308	2514	0.708	0.236	0.027	2077	0.505	0.008	21	22	0.574	0.004	11
LECTURA 4.5"	0.078	0.145	2325	2512	0.598	0.197	0.595	1720	0.503	0.005	21	22	0.574	0.000	---
LECTURA 5.0"	0.001	0.157	2517	2741	0.511	0.134	0.085	1170	0.500	0.003	12	13	0.574	0.000	---
LECTURA 5.5"	0.921	0.463	0.500	0.574
GRADIENTE MEDIO abs/min	...	0.139	0.252	0.435	0.612
"FACTOR POR VOLUMEN" EN U/L MEDIO	...	2220	0.036	7991	3716
"FACTOR POR DILUCION" EN U/L MEDIO	...	2418	2195	5897	3781

TABLA 34.- TABLA ESTADISTICA DE LA ENZIMA TGP (E.C. 2612) CON SUERO FRESCO Y METODO DE SUEROS, SALINA FISIOLOGICA EN CADA SUERO DILUIDO

DETERMINACION ENERGETICA DE LA ENERGIA O SUBSTRATO: TOP (E.C.-2612)											
TIPO DE SUERO VALORADO:				DILUYENTE: AGUA BIDENTALADA							
SUERO PROBLEMA (1)											
METODO MICROTECNICA ENERGETICA	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
METODO TRADICIONAL ENERGETICA	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
CANTIDAD DE SUERO ml	0.01	0.02	0.04	0.06	0.08	0.10	0.10	0.08	0.06	0.04	0.02
CANTIDAD DE SUBSTRATO ml	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
CANTIDAD DE DILUYENTE ml	0.09	0.08	0.06	0.04	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
LECTURA EN ABSORBIANCIA	91	91	91	91	91	91	91	91	91	91	91
GRADIENTE DE abs/min	---	SI	---	SI	---	SI	---	SI	---	SI	---
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L	---	16032	---	8016	---	4127	---	2804	---	2143	---
FACTOR POR DILUCION EN U/L	---	17460	---	8730	---	4365	---	2910	---	2183	---
LECTURA 1.0	1.526	1.466	1.394	1.272	1.105	0.889	0.716	0.589	0.480	0.399	0.320
LECTURA 1.5	1.465	1.448	1.333	1.259	1.097	0.899	0.716	0.589	0.480	0.399	0.320
LECTURA 2.0	1.378	1.255	1.246	1.207	1.033	0.859	0.717	0.616	0.525	0.441	0.363
LECTURA 2.5	1.300	1.160	1.194	1.084	0.980	0.844	0.742	0.643	0.554	0.471	0.393
LECTURA 3.0	1.218	1.167	1.237	1.097	0.984	0.844	0.742	0.643	0.554	0.471	0.393
LECTURA 3.5	1.133	1.149	1.237	1.097	0.984	0.844	0.742	0.643	0.554	0.471	0.393
LECTURA 4.0	1.070	1.170	1.225	1.097	0.984	0.844	0.742	0.643	0.554	0.471	0.393
LECTURA 4.5	0.963	1.086	1.292	1.097	0.984	0.844	0.742	0.643	0.554	0.471	0.393
LECTURA 5.0	0.884	1.029	1.297	1.097	0.984	0.844	0.742	0.643	0.554	0.471	0.393
LECTURA 5.5	0.801	---	0.453	---	0.448	---	0.553	---	0.621	---	0.637
GRADIENTE MEDIO abs/min	---	0.162	---	0.273	---	0.475	---	0.612	---	0.480	---
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L MEDIO	---	2597	---	2110	---	1756	---	1716	---	1029	---
FACTOR POR DILUCION EN U/L MEDIO	---	2829	---	2326	---	1858	---	1781	---	1048	---

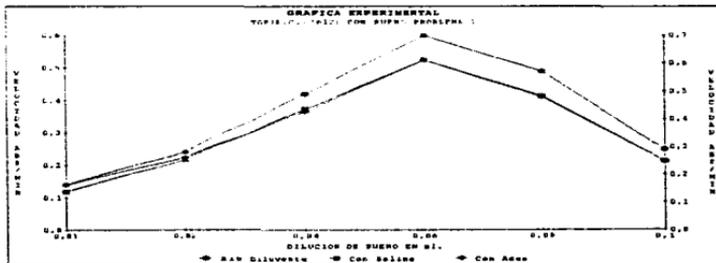
HOJA 15. LECTURA ENERGETICA DE LA ENERGIA O SUBSTRATO: TOP (E.C.-2612) CON SUERO PROBLEMA (1) EN DILUCIONES DE 1:10 A 1:55, AGUA BIDENTALADA EN 0.09 ml SUERO DILUIDO

"SUERO PROBLEMA 1" se integra las velocidades iniciales de los tres métodos realizados con enzima TGP (E.C.-2612);

DILUCION DE SUERO	SIN DILUYENTE	CON SALTINA	CON AGUA
0.01	0.1400	0.1385	0.1620
0.02	0.2485	0.2515	0.2665
0.03	-----	-----	-----
0.04	0.4255	0.4345	0.4255
0.05	-----	-----	-----
0.06	0.6010	0.6120	0.6120
0.07	-----	-----	-----
0.08	0.4890	0.4830	0.4800
0.09	-----	-----	-----
0.10	0.2500	0.2500	0.2500

TABLA 36.-Datos de velocidades iniciales, de los tres métodos trabajados y de cada una de las diluciones usadas, de la enzima TGP (E.C.-2612) con "suero problema 1"

Los valores registrados en la tabla 36 se graficará en el siguiente paso.



GRAFICA 13.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de líneas de la enzima TGP (E.C.-2612) con "suero problema 1".



GRAFICA 13 bis. -Se integra los tres metodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de barras de la enzima TGP (E.C.-2612) con "suero problema 1"

Datos estadísticos para realizar la tabla de ANALISIS DE VARIANZA (ANDEVA)

METODO DILUCCION SIN DILUYENTE		METODO DILUCCION CON SALINA		METODO DILUCCION CON AGUA	
FACTOR F01	FACTOR F02	FACTOR F03	FACTOR F04	FACTOR F05	FACTOR F06
DILUCCION	VOLUMEN	DILUCCION	VOLUMEN	DILUCCION	VOLUMEN
1:10	0.204	0.11	0.1	0.204	0.204
1:20	0.204	0.21	0.204	0.204	0.21
1:40	0.204	0.37	0.37	0.37	0.37
1:80	0.204	0.52	0.52	0.52	0.52
1:160	0.204	0.41	0.41	0.41	0.41
424	424	424	424	424	424
F_1	F_2	F_3	F_4	F_5	F_6
9693.1	9169.1	9299.1	9299.1	10211	9744
f	f	f	f	f	f
1610.6	1521.6	1619.3	1529.3	1702.6	1624

$= T_1$
 $= n_1 n_2 = 36$
 $= \frac{T_1}{T_2}$

CUADRO 17. -Resumen de datos de análisis estadístico clasificados para efectuar la siguiente tabla andeva, de la enzima TGP (E.C.-2612) con "suero problema 1"

Se configura la tabla de ANALISIS DE VARIANZA (ANDEVA)

FUENTE	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CORRECCION MEDIO	F
TRATAMIENTOS	F=1-5	875.104841	CMC= 2000.13	
REPDP	$f_1=36$	827.16984274	CM= 92289.1	$\frac{CMC}{CM} = 0.037$
TOTAL	$f_1=36$	Varianza=471997.66		

TABLA 37. -Tabla de "ANDEVA", donde se obtiene el valor del estadístico "F" de la enzima TGP (E.C.-2612) con "suero problema 1".

TIPO DE SUERO VALUADO:		DETERMINACION ENIMATICA DE LA ENZIMA O SUBSTRATO: TGF(C.C.-1612)										DILUYENTE: SIN DILUYENTE (SOLA REDUCIDO SUERO)												
Método Microtécnica Enzimática		Suero Frecuado (1)					Diluyente					Sin Diluyente (Solo Reducido Suero)												
Método Tradicional Enzimática	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI							
CANTIDAD DE SUERO ml	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16	0.01	0.02							
CANTIDAD DE SUBSTRATO ml	0.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0							
CANTIDAD DE DILUYENTE ml	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00							
LECTURA EN ABSORCIANCIA	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI							
GRADIENTE DE $\Delta A/\Delta t$	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI							
FACTORA POR VOLUMEN EN U/L	---	16032	---	---	8025	---	---	4327	---	---	2204	---	---	2143	---	---	1746							
FACTORA POR DILUCION EN U/L	---	---	17460	---	---	9730	---	---	4365	---	---	2910	---	---	2161	---	---	1746						
LECTURA 1.0	0.300	---	---	1.304	---	---	5.313	---	---	1.369	---	---	1.363	---	---	1.359	---	---						
LECTURA 1.5	0.299	0.002	32	35	0.303	0.003	24	26	0.311	0.004	17	17	0.345	0.009	25	26	0.377	0.011	24	24	0.352	0.012	21	21
LECTURA 2.0	0.288	0.002	32	35	0.301	0.003	24	26	0.309	0.004	17	17	0.340	0.008	22	23	0.372	0.010	21	22	0.346	0.012	21	21
LECTURA 2.5	0.287	0.001	32	35	0.300	0.002	16	17	0.307	0.003	21	22	0.357	0.008	22	23	0.367	0.010	21	22	0.340	0.012	21	21
LECTURA 3.0	0.286	0.002	32	35	0.298	0.002	16	17	0.304	0.004	17	17	0.352	0.009	25	26	0.367	0.011	24	24	0.334	0.012	21	21
LECTURA 3.5	0.285	0.001	16	17	0.298	0.003	24	26	0.303	0.004	17	17	0.348	0.008	22	23	0.356	0.011	24	24	0.328	0.012	21	21
LECTURA 4.0	0.285	0.001	16	17	0.296	0.003	24	26	0.300	0.005	21	21	0.344	0.008	22	23	0.351	0.010	21	22	0.322	0.012	21	21
LECTURA 4.5	0.284	0.002	32	35	0.295	0.002	16	17	0.298	0.004	17	17	0.343	0.008	22	23	0.346	0.011	24	24	0.316	0.012	21	21
LECTURA 5.0	0.283	0.002	32	35	0.294	0.002	16	17	0.296	0.004	17	17	0.336	0.008	22	23	0.340	0.011	24	24	0.310	0.012	21	21
LECTURA 5.5	0.282	---	---	---	0.293	---	---	---	0.294	---	---	---	0.332	---	---	---	0.335	---	---	---	0.304	---	---	---
GRADIENTE MEDIO $\Delta A/\Delta t$	---	0.002	---	---	0.003	---	---	---	0.014	---	---	---	0.008	---	---	---	0.011	---	---	---	0.012	---	---	---
FACTORA POR VOLUMEN EN U/L MEDIO	---	---	20	---	---	20	---	---	10	---	---	---	20	---	---	---	21	---	---	---	21	---	---	---
FACTORA POR DILUCION EN U/L MEDIO	---	---	31	---	---	22	---	---	10	---	---	---	21	---	---	---	23	---	---	---	21	---	---	---

TABLA 36.- TABLA EXPERIMENTAL DE LA ENZIMA TGF(C.C.-1612) CON SUERO FRECUADO COMO SUBSTRATO Y SIN DILUYENTE. LA CANTIDAD DE SUERO SIN DILUIR ES:

TIPO DE SUERO VALORADO:		DETERMINACION ENZIMATICA DE LA ENZIMA O SUBSTRATO: TGR(E.C.-2612)										DILUYENTE: SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA 0.9 %									
SUERO PROBLEMA (2)		SI					SI					SI					SI				
SUERO PROBLEMA (2)		SI					SI					SI					SI				
ESTODO MICROTECNICA ENZIMATICA	SI	SI					SI					SI					SI				
ESTODO TRADICIONAL ENZIMATICA	NO	NO					NO					NO					SI				
CANTIDAD DE SUERO ml	0.01	0.02					0.04					0.06					0.08				
CANTIDAD DE SUBSTRATO ml	0.0	1.0					1.0					1.0					1.0				
CANTIDAD DE DILUYENTE ml	0.09	0.06					0.06					0.04					0.02				
LECTURA EN ABSORVANCIA	SI	SI					SI					SI					SI				
GRADIENTE DE abs/min	SI	SI					SI					SI					SI				
"FACTOR POR VOLUMEN" EN U/L	---	16032					8096					4127					2804				
"FACTOR POR DILUCION" EN U/L	---	17460					8730					4365					2910				
LECTURA 1.0"	1.201	1.220					1.239					1.271					1.390				
LECTURA 1.5"	1.199 0.003	48	52	1.218 0.003	24	26	1.237 0.004	17	17	1.268 0.007	20	20	1.366 0.008	17	17	1.352 0.012	21	21			
LECTURA 2.0"	1.199 0.002	32	35	1.217 0.003	24	26	1.235 0.004	17	17	1.264 0.006	17	17	1.362 0.007	15	15	1.346 0.012	21	21			
LECTURA 2.5"	1.197 0.001	16	17	1.215 0.004	32	35	1.233 0.005	21	22	1.262 0.006	17	17	1.375 0.007	15	15	1.340 0.012	21	21			
LECTURA 3.0"	1.197 0.001	16	17	1.213 0.003	24	26	1.230 0.005	21	22	1.258 0.007	20	20	1.375 0.006	17	17	1.334 0.012	21	21			
LECTURA 3.5"	1.196 0.002	32	35	1.212 0.003	24	26	1.228 0.004	19	19	1.255 0.005	14	15	1.371 0.007	15	15	1.328 0.012	21	21			
LECTURA 4.0"	1.195 0.002	32	35	1.210 0.003	24	26	1.226 0.004	17	17	1.252 0.006	17	17	1.368 0.007	15	15	1.322 0.012	21	21			
LECTURA 4.5"	1.194 0.002	32	35	1.209 0.002	16	17	1.224 0.004	19	17	1.249 0.006	17	17	1.364 0.009	19	20	1.316 0.012	21	21			
LECTURA 5.0"	1.193 0.001	16	17	1.208 0.002	16	17	1.222 0.004	17	17	1.245 0.006	17	17	1.359 0.008	17	17	1.310 0.012	21	21			
LECTURA 5.5"	1.193	1.207					1.220					1.243					1.356				
GRADIENTE MEDIO abs/min	---	0.002					0.003					0.004					0.008				
"FACTOR POR VOLUMEN" EN U/L MEDIO	---	28					23					18					17				
"FACTOR POR DILUCION" EN U/L MEDIO	---	33					29					18					18				

TABLA 19.-TABLA EX-SUBMETAL DE LA ENZIMA TGR(E.C.-2612) CON "SUERO PROBLEMA 2" (REVALORADO) SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA EN CADA SUERO COMIENZO

TIPO DE SUERO VALORADO:		DETERMINACION ENIMATICA DE LA ENZIMA O SUBSTRATO: IGP (E.C. - 2612)											
Método Microtécnica Enimática		SUERO PROBLEMA (2)					DILUYENTE: AGUA BIPOTILICA						
Método Tradicional Enimática	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
CANTIDAD DE SUERO ml	0.01	0.02	0.04	0.06	0.08	0.06	0.08	0.08	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
CANTIDAD DE SUBSTRATO ml	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
CANTIDAD DE DILUYENTE ml	0.09	0.09	0.06	0.06	0.06	0.04	0.02	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
LECTURA EN ABSORVANCIA	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
GRADIENTE DE abs/min	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
"FACTOR POR VOLUMEN" EN U/L	---	16032	---	8098	---	6127	---	2804	---	2143	---	1746	---
"FACTOR POR DILUCION" EN U/L	---	17460	---	8730	---	4365	---	2810	---	2163	---	1746	---
LECTURA 1.0°	1.204	---	1.218	---	1.255	---	1.283	---	1.363	---	1.358	---	---
LECTURA 1.5°	1.203 0.001	16 17	1.217 0.003	24 26	1.252 0.006	25 26	1.27 0.007	20 20	1.358 0.009	19 20	1.352 0.012	21 21	---
LECTURA 2.0°	1.203 0.001	16 17	1.215 0.003	24 26	1.249 0.006	25 26	1.273 0.007	20 20	1.354 0.009	19 20	1.346 0.012	21 21	---
LECTURA 2.5°	1.202 0.002	32 35	1.214 0.003	24 26	1.246 0.006	25 26	1.269 0.007	20 20	1.349 0.009	19 20	1.340 0.012	21 21	---
LECTURA 3.0°	1.201 0.002	32 35	1.212 0.003	24 26	1.243 0.005	21 22	1.266 0.007	20 20	1.345 0.009	19 20	1.334 0.012	21 21	---
LECTURA 3.5°	1.200 0.001	16 17	1.211 0.003	24 26	1.241 0.005	21 22	1.262 0.007	20 20	1.340 0.009	19 20	1.328 0.012	21 21	---
LECTURA 4.0°	1.200 0.001	16 17	1.209 0.004	32 35	1.238 0.006	25 26	1.259 0.007	20 20	1.336 0.009	19 20	1.322 0.012	21 21	---
LECTURA 4.5°	1.199 0.002	32 35	1.207 0.004	32 35	1.235 0.006	25 26	1.255 0.007	20 20	1.331 0.009	19 20	1.316 0.012	21 21	---
LECTURA 5.0°	1.198 0.001	16 17	1.205 0.004	32 35	1.232 0.006	25 26	1.252 0.007	20 20	1.327 0.009	19 20	1.310 0.012	21 21	---
LECTURA 5.5°	1.198	---	1.203	---	1.229	---	1.248	---	1.322	---	1.304	---	---
GRADIENTE MEDIO abs/min	---	0.001	---	0.003	---	0.006	---	0.007	---	0.009	---	0.012	---
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L MEDIO	---	22	---	27	---	24	---	20	---	19	---	21	---
FACTOR POR DILUCION EN U/L MEDIO	---	---	24	---	29	---	25	---	20	---	20	---	23

Tabla 60.- TABLA EXPERIMENTAL DE LA ENZIMA IGP (E.C. - 2612) CON "SUERO PROBLEMA 2" EN EL 100% DE DILUCION EN AGUA BIPOTILICA EN CADA UNO DE LOS

"SUERO PROBLEMA 2" se integra las velocidades iniciales de los tres métodos realizados con enzima TGP (E.C.-2612);

DILUCION DE SUERO	SIN DILUYENTE	CON SALINA	CON AGUA
0.01	0.00175	0.00175	0.001375
0.02	0.00350	0.00350	0.003375
0.03	-----	-----	-----
0.04	0.00425	0.00425	0.00575
0.05	-----	-----	-----
0.06	0.00850	0.00612	0.00700
0.07	-----	-----	-----
0.08	0.01000	0.00762	0.00900
0.09	-----	-----	-----
0.10	0.01200	0.01200	0.01200

TABLA 41.-Datos de velocidades iniciales, de los tres métodos trabajados y de cada una de las diluciones usadas, de la enzima TGP (E.C.-2612) con "suero problema 2"

Los valores registrados en la tabla 41 se graficará en el siguiente paso.



GRAFICA 14.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de líneas de la enzima TGP (E.C.-2612) con "suero problema 2".



GRAFICA 14 bis. -Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de barras de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero problema 2".
 Datos estadísticos para realizar la tabla de ANALISIS DE VARIANZA (ANDEVA)

METODO DILUTION SIN DILUYENTE		METODO DILUTION CON SALINA		METODO DILUTION CON AGUA	
FACTOR FOLIN	FACTOR DILUTION VOLUMEN	FACTOR FOLIN	FACTOR DILUTION VOLUMEN	FACTOR FOLIN	FACTOR DILUTION VOLUMEN
20.5	20	30	20	24	20
25.5	20	25	20	24	20
26.25	15	26.75	15	24	20
24	20.75	18	20.25	24	20
21.5	20	18	20.25	24	20
22	20	22	20	24	20
N_1	N_2	N_3	N_4	N_5	N_6
127.25	120.75	127.50	120.00	120.00	120.00
\bar{c}	\bar{c}	\bar{c}	\bar{c}	\bar{c}	\bar{c}
22.4	20.1	21.5	20.0	20.0	20.0

$T_1 = 7$
 $T_2 = 6$
 $T_3 = 6$
 $T_4 = 6$
 $T_5 = 6$
 $T_6 = 6$

CUADRO 18. -Resumen de datos de análisis estadístico clasificados para efectuar la siguiente tabla andeva, de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero problema 2"

Se configura la tabla de ANALISIS DE VARIANZA (ANDEVA).

FUENTE	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CORRECCION MEDIA	F
TRATAMIENTOS	$F=1-5$	$SS=28.263$	$CM=5.6766$	$\frac{CM}{CME} = 0.3484$
ERROK	$D_f = N-20$	$SS=190.783$	$CM=16.2927$	
TOTAL	$F_d=1-20$	varianza 14.26016		

TABLA 42. -Tabla de "ANDEVA", donde se obtiene el valor del estadístico "F" de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero problema 2"

DETERMINACION EXPERIMENTAL DE LA ENZIMA O SUBSTRATO: TGP (E.C.-2612)															
TIPO DE SUERO VALORADO:				TEST POINT (CONTROL 1)				DILUYENTE: SIN DILUYENTE (SOLO REDUCIENDO SUERO)							
MÉTODO MICRODIFUSIÓN ENZIMÁTICA		SI	NO	SI		NO		SI		NO		SI		NO	
MÉTODO TRADICIONAL ENZIMÁTICA		SI	NO	SI		NO		SI		NO		SI		NO	
CANTIDAD DE SUERO ml		0.01	0.02	0.02	0.04	0.06	0.08	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
CANTIDAD DE SUBSTRATO ml		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
CANTIDAD DE DILUYENTE ml		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
LECTURA EN ABARRANCIA		SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
GRADIENTE DE ABARRANCIA		SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L		---	16332	---	6095	---	4127	---	2654	---	2143	---	1746	---	1746
FACTOR POR DILUCIÓN EN U/L		---	17465	---	8730	---	5787	---	3858	---	2910	---	2193	---	1746
LECTURA 1.0"		1.648	---	1.665	---	1.722	---	1.788	---	1.891	---	1.936	---	1.936	---
LECTURA 1.5"		1.647	0.001	1.677	0.003	1.720	0.005	1.784	0.007	1.890	0.009	1.936	0.011	1.936	0.011
LECTURA 2.0"		1.647	0.001	1.677	0.003	1.720	0.005	1.784	0.006	1.890	0.009	1.936	0.011	1.936	0.011
LECTURA 2.5"		1.646	0.002	1.677	0.004	1.720	0.004	1.784	0.007	1.890	0.009	1.936	0.011	1.936	0.011
LECTURA 3.0"		1.645	0.002	1.677	0.003	1.720	0.004	1.784	0.007	1.890	0.009	1.936	0.011	1.936	0.011
LECTURA 3.5"		1.644	0.001	1.677	0.003	1.720	0.004	1.784	0.006	1.890	0.009	1.936	0.011	1.936	0.011
LECTURA 4.0"		1.644	0.001	1.677	0.003	1.720	0.004	1.784	0.006	1.890	0.009	1.936	0.011	1.936	0.011
LECTURA 4.5"		1.643	0.001	1.677	0.003	1.720	0.004	1.784	0.006	1.890	0.009	1.936	0.011	1.936	0.011
LECTURA 5.0"		1.643	0.001	1.677	0.003	1.720	0.004	1.784	0.006	1.890	0.009	1.936	0.011	1.936	0.011
LECTURA 5.5"		1.642	---	1.651	---	1.703	---	1.718	---	1.761	---	1.786	---	1.786	---
GRADIENTE MEDIO ABARRANCIA		---	0.001	---	0.003	---	0.004	---	0.007	---	0.009	---	0.011	---	0.011
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L MEDIO		---	20	---	28	---	18	---	18	---	19	---	19	---	19
FACTOR POR DILUCIÓN EN U/L MEDIO		---	22	---	27	---	16	---	16	---	20	---	19	---	19

TABLA 11.- TABLA EXPERIMENTAL DE LA ENZIMA TGP (E.C.-2612) CON "SUERO" T. P. CONTROL 1. MEDICIONES SIN DILUYENTE, SOLO REDUCIENDO LA CANTIDAD DE SUERO EN CADA SUERO DIFUNTO

DETERMINACION ENEMÁTICA DE LA ENZIMA O SUBSTRATO: TQ(IE.C.-2612)													
TIPO DE SUELO VALORADO:				TEST POINT (CONTROL 1)				DILUYENTE: SOLUCION SALINA FISIOLÓGICA 0.9 %					
METODO MICROTECNICA ENEMÁTICA	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
METODO TRADICIONAL ENEMÁTICA	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
CANTIDAD DE SUELO a)	0.01	0.02	0.04	0.06	0.08	0.10	0.12	0.14	0.16	0.18	0.20	0.22	0.24
CANTIDAD DE SUBSTRATO b)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
CANTIDAD DE DILUYENTE c)	0.09	0.08	0.06	0.04	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
LECTURA EN ABSORVANCIA	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
COEFICIENTE DE ABSORVANCIA	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L	16032	17440	8095	9730	4127	4965	2908	2910	2183	1746	1746	1746	1746
FACTOR POR DILUCION EN U/L	1.519	1.519	1.519	1.519	1.519	1.519	1.519	1.519	1.519	1.519	1.519	1.519	1.519
LECTURA 1.0	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009
LECTURA 1.5	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014
LECTURA 2.0	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019
LECTURA 2.5	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024	0.024
LECTURA 3.0	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029
LECTURA 3.5	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034
LECTURA 4.0	0.039	0.039	0.039	0.039	0.039	0.039	0.039	0.039	0.039	0.039	0.039	0.039	0.039
LECTURA 4.5	0.044	0.044	0.044	0.044	0.044	0.044	0.044	0.044	0.044	0.044	0.044	0.044	0.044
LECTURA 5.0	0.049	0.049	0.049	0.049	0.049	0.049	0.049	0.049	0.049	0.049	0.049	0.049	0.049
LECTURA 5.5	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054	0.054
COEFICIENTE MEDIO ABSORVANCIA	0.022	0.022	0.022	0.022	0.022	0.022	0.022	0.022	0.022	0.022	0.022	0.022	0.022
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L MEDIO	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
FACTOR POR DILUCION EN U/L MEDIO	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27

TABLA 44.- TABLA REFERENCIAL DE LA ENZIMA TQ(IE.C.-2612); C.A. "SUELO" 1517 POINT "MÉDIO" 17440 COEFIC. ABSORVANCIA 0.022 EN U/L MEDIO EN LA SALINA FISIOLÓGICA 0.9 %

TIPO DE SUELO VALORADO:		DETERMINACION ENIMATICA DE LA ENZIMA O SUBSTRATO: TGP (E.C.-2612)				DILUYENTE: AGUA BISTESTILADA			
		TEST POSIT (CONTROL 1)		CONTROL 2		DILUYENTE		AGUA BISTESTILADA	
METODO MICROTECNICA ENIMATICA	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
METODO TRADICIONAL ENIMATICA	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
CANTIDAD DE SUELO ml	0.01	0.02	0.04	0.06	0.08	0.10	0.10	0.10	0.10
CANTIDAD DE SUBSTRATO ml	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
CANTIDAD DE DILUYENTE ml	0.09	0.08	0.06	0.04	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
LECTURA EN ABSORVANCIA	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
GRADIENTE DE abs/min	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L	---	16932	---	8395	---	4127	---	2804	---
FACTOR POR DILUCION EN U/L	---	17460	---	8730	---	4365	---	2910	---
LECTURA 1.0	0.522	0.556	0.636	0.691	0.763	0.836	0.836	0.836	0.836
LECTURA 1.5	0.821 0.002	32 35	0.555 0.003	24 26	0.634 0.004	17 17	0.681 0.006	17 17	0.759 0.008
LECTURA 2.0	0.520 0.001	16 17	0.553 0.004	32 35	0.632 0.004	17 17	0.673 0.007	20 20	0.755 0.009
LECTURA 2.5	0.520 0.001	16 17	0.551 0.004	32 35	0.630 0.005	21 22	0.674 0.006	17 17	0.751 0.008
LECTURA 3.0	0.519 0.002	32 35	0.549 0.003	24 26	0.627 0.005	21 22	0.671 0.007	20 20	0.747 0.009
LECTURA 3.5	0.516 0.001	16 17	0.548 0.003	24 26	0.625 0.004	17 17	0.667 0.007	20 20	0.742 0.009
LECTURA 4.0	0.516 0.001	16 17	0.546 0.003	24 26	0.623 0.004	17 17	0.664 0.007	20 20	0.738 0.008
LECTURA 4.5	0.517 0.002	32 35	0.545 0.003	24 26	0.621 0.004	17 17	0.660 0.007	20 20	0.734 0.008
LECTURA 5.0	0.516 0.002	32 35	0.543 0.003	24 26	0.619 0.004	17 17	0.657 0.006	17 17	0.730 0.008
LECTURA 5.5	0.515	---	0.542	---	0.617	---	0.654	---	0.726
GRADIENTE MEDIO abs/min	---	0.002	---	0.003	26	---	0.004	---	0.008
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L MEDIO	---	24	---	---	---	16	---	19	---
FACTOR POR DILUCION EN U/L MEDIO	---	26	---	28	---	16	---	19	---

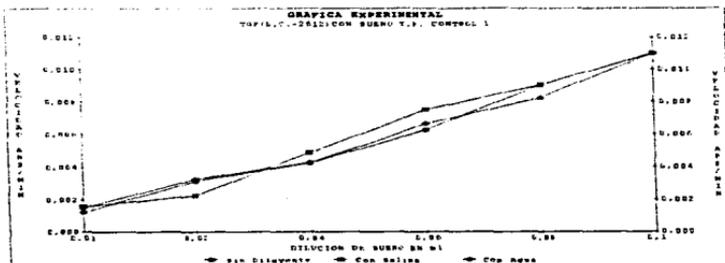
TABLA 15.-TABLA EXPERIMENTAL DE LA ENZIMA TGP (E.C.-2612) CON "SUELO" TEST POSIT (CONTROL 1) *METODO CON SOLUCION AGUA BISTESTILADA EN CADA SUELO (CUBI20)

"SUERO TEST POINT CONTROL 1" se integra las velocidades iniciales de los tres métodos realizados con enzima TGP(E.C.-2612) ;

DILUCION DE SUERO	SIN DILUYENTE	CON SALINA	CON AGUA
0.01	0.00125	0.00157	0.00150
0.02	0.00313	0.00375	0.00375
0.03	-----	-----	-----
0.04	0.00475	0.00487	0.00425
0.05	-----	-----	-----
0.06	0.00600	0.00750	0.00663
0.07	-----	-----	-----
0.08	0.00800	0.00900	0.00800
0.09	-----	-----	-----
0.10	0.01100	0.01100	0.01100

TABLE 46.-Datos de velocidades iniciales, de los tres métodos trabajados y de cada una de las diluciones usadas, de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero test point control 1"

Los valores registrados en la tabla 46 se graficará en el siguiente paso.



GRAFICA 15.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de líneas de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero test point control 1".



GRAFICA 15 bis. -Se integra los tres metodos con los datos de velocidades iniciales en la grafica de barras de la enzima TGP (E.C.-2612) con "suero test point control 1".

Datos estadísticos para realizar la tabla de **ANALISIS DE VARIANZA (ANDEVA)**.

MÉTODO DE BRIX		MÉTODO DE REFRACTÓMETRO		MÉTODO DE DENSÍMETRO	
CON SUERO CONTROL		CON SUERO CONTROL		CON SUERO CONTROL	
REPETICIONES	VOLUMEN	REPETICIONES	VOLUMEN	REPETICIONES	VOLUMEN
10	0.001	10	0.001	10	0.001
10	0.002	10	0.002	10	0.002
10	0.003	10	0.003	10	0.003
10	0.004	10	0.004	10	0.004
10	0.005	10	0.005	10	0.005
10	0.006	10	0.006	10	0.006
10	0.007	10	0.007	10	0.007
10	0.008	10	0.008	10	0.008
10	0.009	10	0.009	10	0.009
10	0.010	10	0.010	10	0.010
10	0.011	10	0.011	10	0.011
10	0.012	10	0.012	10	0.012
10	0.013	10	0.013	10	0.013
10	0.014	10	0.014	10	0.014
10	0.015	10	0.015	10	0.015
10	0.016	10	0.016	10	0.016
10	0.017	10	0.017	10	0.017
10	0.018	10	0.018	10	0.018
10	0.019	10	0.019	10	0.019
10	0.020	10	0.020	10	0.020
10	0.021	10	0.021	10	0.021
10	0.022	10	0.022	10	0.022
10	0.023	10	0.023	10	0.023
10	0.024	10	0.024	10	0.024
10	0.025	10	0.025	10	0.025
10	0.026	10	0.026	10	0.026
10	0.027	10	0.027	10	0.027
10	0.028	10	0.028	10	0.028
10	0.029	10	0.029	10	0.029
10	0.030	10	0.030	10	0.030
10	0.031	10	0.031	10	0.031
10	0.032	10	0.032	10	0.032
10	0.033	10	0.033	10	0.033
10	0.034	10	0.034	10	0.034
10	0.035	10	0.035	10	0.035
10	0.036	10	0.036	10	0.036
10	0.037	10	0.037	10	0.037
10	0.038	10	0.038	10	0.038
10	0.039	10	0.039	10	0.039
10	0.040	10	0.040	10	0.040
10	0.041	10	0.041	10	0.041
10	0.042	10	0.042	10	0.042
10	0.043	10	0.043	10	0.043
10	0.044	10	0.044	10	0.044
10	0.045	10	0.045	10	0.045
10	0.046	10	0.046	10	0.046
10	0.047	10	0.047	10	0.047
10	0.048	10	0.048	10	0.048
10	0.049	10	0.049	10	0.049
10	0.050	10	0.050	10	0.050
10	0.051	10	0.051	10	0.051
10	0.052	10	0.052	10	0.052
10	0.053	10	0.053	10	0.053
10	0.054	10	0.054	10	0.054
10	0.055	10	0.055	10	0.055
10	0.056	10	0.056	10	0.056
10	0.057	10	0.057	10	0.057
10	0.058	10	0.058	10	0.058
10	0.059	10	0.059	10	0.059
10	0.060	10	0.060	10	0.060
10	0.061	10	0.061	10	0.061
10	0.062	10	0.062	10	0.062
10	0.063	10	0.063	10	0.063
10	0.064	10	0.064	10	0.064
10	0.065	10	0.065	10	0.065
10	0.066	10	0.066	10	0.066
10	0.067	10	0.067	10	0.067
10	0.068	10	0.068	10	0.068
10	0.069	10	0.069	10	0.069
10	0.070	10	0.070	10	0.070
10	0.071	10	0.071	10	0.071
10	0.072	10	0.072	10	0.072
10	0.073	10	0.073	10	0.073
10	0.074	10	0.074	10	0.074
10	0.075	10	0.075	10	0.075
10	0.076	10	0.076	10	0.076
10	0.077	10	0.077	10	0.077
10	0.078	10	0.078	10	0.078
10	0.079	10	0.079	10	0.079
10	0.080	10	0.080	10	0.080
10	0.081	10	0.081	10	0.081
10	0.082	10	0.082	10	0.082
10	0.083	10	0.083	10	0.083
10	0.084	10	0.084	10	0.084
10	0.085	10	0.085	10	0.085
10	0.086	10	0.086	10	0.086
10	0.087	10	0.087	10	0.087
10	0.088	10	0.088	10	0.088
10	0.089	10	0.089	10	0.089
10	0.090	10	0.090	10	0.090
10	0.091	10	0.091	10	0.091
10	0.092	10	0.092	10	0.092
10	0.093	10	0.093	10	0.093
10	0.094	10	0.094	10	0.094
10	0.095	10	0.095	10	0.095
10	0.096	10	0.096	10	0.096
10	0.097	10	0.097	10	0.097
10	0.098	10	0.098	10	0.098
10	0.099	10	0.099	10	0.099
10	0.100	10	0.100	10	0.100

CUADRO 19. -Resumen de datos de analisis estadístico clasificados para efectuar la siguiente tabla andeva, de la enzima TGP (E.C.-2612) con "suero test point control 1"

Se configura la tabla de **ANALISIS DE VARIANZA (ANDEVA)**.

FUENTE	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	COEFICIENTE DE VARIACION	F
TRATAMIENTOS	10	0.0001	0.0001	0.0001
ERRORES	90	0.0009	0.0009	0.0009
TOTAL	100	0.0010	0.0010	0.0010

TABLA 47. -Tabla de "ANDEVA", donde se obtiene el valor del estadístico "F" de la enzima TGP (E.C.-2612) con "suero test point control 1".

TIPO DE SUERO VALORADO:		DETERMINACION ENIMATICA DE LA HEMIA O SUBSTRATO: TYPH.C.-26121											
		TEST POINT (CONTROL 2)				DILUYENTE: SIN DILUYENTE (SERO REPLICADO SUERO)							
METODO MICROTECNICA ENIMATICA	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
METODO TRADICIONAL ENIMATICA	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
CANTIDAD DE SUERO a1	0.01	0.02	0.04	0.06	0.08	0.10	0.12	0.14	0.16	0.18	0.20	0.22	0.24
CANTIDAD DE SUBSTRATO a1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
CANTIDAD DE DILUYENTE a1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
LECTURA EN ABSORVANCIA	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
GRADIENTE DE a1/a1n	---	51	---	51	---	51	---	51	---	51	---	51	---
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L	---	16032	---	8095	---	4127	---	2904	---	2143	---	1746	---
FACTOR POR DILUCION EN U/L	---	17460	---	8730	---	4365	---	2910	---	2163	---	1746	---
LECTURA 1.0	0.722	---	0.752	---	0.800	---	0.854	---	0.897	---	0.955	---	1.000
LECTURA 1.5	0.319 0.006 96	105	0.746 0.011 89 96	0.793 0.013 54 57	0.846 0.016 45 47	0.888 0.018 39 39	0.945 0.018 33 33	---	---	---	---	---	---
LECTURA 2.0	0.316 0.006 96	105	0.741 0.010 81 87	0.787 0.013 54 57	0.838 0.016 45 47	0.879 0.017 36 37	0.936 0.019 33 33	---	---	---	---	---	---
LECTURA 2.5	0.313 0.006 96	105	0.736 0.010 81 87	0.780 0.013 54 57	0.830 0.015 45 44	0.871 0.017 36 37	0.928 0.018 33 33	---	---	---	---	---	---
LECTURA 3.0	0.310 0.006 96	105	0.731 0.011 89 96	0.774 0.013 54 57	0.823 0.015 45 44	0.863 0.018 39 39	0.917 0.019 33 33	---	---	---	---	---	---
LECTURA 3.5	0.307 0.006 80	87	0.725 0.011 89 96	0.767 0.013 54 57	0.815 0.016 45 47	0.853 0.017 36 37	0.907 0.019 33 33	---	---	---	---	---	---
LECTURA 4.0	0.305 0.006 80	87	0.720 0.010 81 87	0.761 0.013 54 57	0.807 0.016 45 47	0.845 0.017 36 37	0.898 0.019 33 33	---	---	---	---	---	---
LECTURA 4.5	0.302 0.006 96	105	0.715 0.011 89 96	0.754 0.013 54 57	0.799 0.015 42 44	0.836 0.018 39 39	0.888 0.019 33 33	---	---	---	---	---	---
LECTURA 5.0	0.299 0.006 96	105	0.709 0.011 89 96	0.748 0.013 54 57	0.797 0.015 42 44	0.827 0.018 39 39	0.879 0.019 33 33	---	---	---	---	---	---
LECTURA 5.5	0.296	---	0.704	---	0.741	---	0.784	---	0.818	---	0.869	---	---
GRADIENTE MEDIO a1/a1n	---	0.006	---	0.011	---	0.013	---	0.016	---	0.018	---	0.019	---
FACTOR POR VOLUMEN EN U/L MEDIO	---	92	---	86	---	54	---	44	---	38	---	33	---
FACTOR POR DILUCION EN U/L MEDIO	---	100	---	93	---	57	---	45	---	38	---	33	---

Tabla 15. TACIA PROPORCIONAL DE LA HEMIA DE (E.C.-2612) CON TIEMPO 2.5. CANTIDAD 2.000 ml POR DILUYENTE, CADA REPLICADO LA CANTIDAD DE SUERO ES CADA SUERO DIFERENTE

TIPO DE SUEÑO VARIADO		DETERMINACION EXPERIMENTAL DE LA LÍNEA O SUB-GRUPO (TABLA 50-202)									
		TEST TONI CONTROL 21					DIFERENTE ASIA BIENITLACA				
TIPO MICROTECNIA BIENITLACA	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
LENG. PARCIAL BIENITLACA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
AMPLITUD DE SUSPENDO 21	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
AMPLITUD DE SUSPENDO 21	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
AMPLITUD DE SILENCIO 21	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
LECTURA EN ASISTENCIA	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
PRESENTE EN 21/21	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
"FACTOR POR VOLUBEN" EN 21	0.0	1746	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1746
"FACTOR POR DIFERENCIA" EN 21	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
LECTURA 1.0"	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
LECTURA 1.5"	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
LECTURA 2.0"	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
LECTURA 2.5"	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
LECTURA 3.0"	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
LECTURA 3.5"	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
LECTURA 4.0"	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
LECTURA 4.5"	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
LECTURA 5.0"	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
LECTURA 5.5"	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
PRESENTE MEDIO 21/21	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
FACTOR POR VOLUBEN EN 21 MEDIO	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
FACTOR POR DIFERENCIA EN 21 MEDIO	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

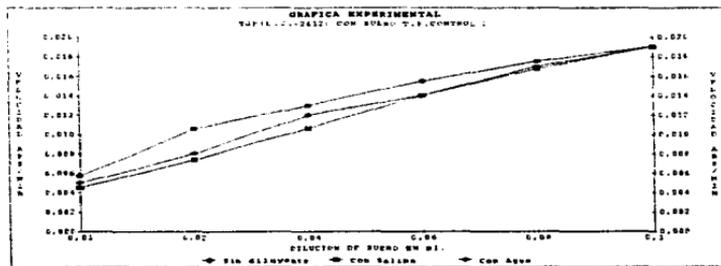
TABLA 50.-TABLA EXPERIMENTAL DE LA LÍNEA (O.F.C.-2012) CON "SUERO TEST TONI CONTROL" (MATERIA ORGÁNICA SOLUCIONADA EN CADA SUEÑO DOMINIO

"SUERO TEST POINT CONTROL 2" se integra las velocidades iniciales de los tres métodos realizados con enzima TGP(E.C.-2612);

DILUCION DE SUERO	SIN DILUYENTE	CON SALINA	CON AGUA
0.01	0.0057	0.0045	0.0050
0.02	0.0106	0.0074	0.0080
0.03	-----	-----	-----
0.04	0.0130	0.0106	0.0120
0.05	-----	-----	-----
0.06	0.0151	0.0140	0.0140
0.07	-----	-----	-----
0.08	0.0175	0.0161	0.0170
0.09	-----	-----	-----
0.10	0.0190	0.0190	0.0190

TABLA 51.-Datos de velocidades iniciales, de los tres métodos trabajados y de cada una de las diluciones usadas, de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero test point control 2"

Los valores registrados en la tabla 51 se graficará en el siguiente paso.



GRAFICA 16.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de líneas de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero test point control 2".

RESUMEN DE RESULTADOS

TIPO DE ANALISIS	EVIDENCIA DE LAS 3 PRUEBAS VALOR DE LA PRUEBA	VALOR DE "ANOVA"
Prueba problema 1 TGF(E.C.-2612)	- NO HAY DIFERENCIA	0,790
Prueba problema 2 TGF(E.C.-2612)	- NO HAY DIFERENCIA	1,080
Prueba test point control 1 ... TGF(E.C.-2612)	- NO HAY DIFERENCIA	1,790
Prueba test point control 2 ... TGF(E.C.-2612)	- NO HAY DIFERENCIA	0,450
Prueba problema 1 TGF(E.C.-2612)	- NO HAY DIFERENCIA	0,037
Prueba problema 2 TGF(E.C.-2612)	- NO HAY DIFERENCIA	0,314
Prueba test point control 1 ... TGF(E.C.-2612)	- NO HAY DIFERENCIA	0,0410
Prueba test point control 2 ... TGF(E.C.-2612)	- NO HAY DIFERENCIA	0,314

CUADRO 21.-Cuadro resumen: de resultados de las encimas TGF(E.C.-2611) Y TGF(E.C.-2612)

El valor crítico del estadístico "F" cuando alfa = 0.05 es 4.96 (obtenido en tablas)

$$\left| \begin{array}{ccc} | & | & | \\ | & | & | \\ | & | & | \end{array} \right|$$

Para la hipótesis nula (H₀) sea:

El estadístico "F" sea menor al valor de 4.96, por lo tanto "NO" hay evidencia suficiente para

rechazar la hipótesis nula (H₀): por lo tanto se afirma que el método propuesto si funciona.

CAPITULO VIII ANALISIS Y CONCLUSIONES

TEMA VIII.1 ANALISIS DE RESULTADOS

1.-En este trabajo se realiza la determinación de la actividad enzimática de los sustratos TGO (E.C.-2611) y TGP (E.C.-2612) con sueros de pacientes hospitalizados así como sueros control en la cual se compara los métodos, microtécnica enzimática y la técnica tradicional enzimática realizado en el Hospital General Regional N. 25 del Instituto Mexicano del Seguro Social.

2.-La base de cálculo propuesto para el método llamado "dilución sin diluyente*", está basado en la misma fórmula original de cálculo de las enzimas TGO (E.C.-2611) y TGP (E.C.-2612) de la técnica tradicional enzimática.

*Dilución sin diluyente.-Es solo la reducción del suero proporcional sin el uso de diluyente, este término se usa para no perder la esencia del objetivo de la dilución usada en los métodos subsiguientes en la que si son una verdadera dilución.

3.-El uso de diluyentes en la valoración de la actividad enzimática de las enzimas TGO (E.C.-2611) y TGP (E.C.-2612), ajusta la concentración enzimática y/o cantidad de enzima a la concentración del sustrato usado.

El "método tradicional enzimático" ajusta la concentración alta de alguna enzima, con la dilución que se lleve a cabo en el suero a valorar con relación a las enzimas TGO (E.C.-2611) y TGP (E.C.-2612).

En el "método microtécnica enzimático" cumple con la misma función de ajustar la concentración enzimática al sustrato, capaz de ser medible por los aparatos del técnico que está trabajando principalmente, en los casos clínicos, donde el método usado no da el valor real de la actividad enzimática por tener una concentración demasiado alta de la enzima o en los casos en que la concentración puede ser normal pero por algún químico (medicamento) o solución introducida al paciente que impida su valoración correcta.

5.-El método estadístico usado análisis de varianza (NIDEVA) indica que es confiable el método propuesto "dilución sin diluyente", se usa gráficos de líneas y barras para visualizar la discrepancia de los métodos.

Dentro de las ventajas que presenta el método propuesto se encuentra:

- A.-Reduce costos del laboratorio, al dejar de usar diluyentes como: solución salina fisiológica, agua bidestilada según sea el caso del uso.
- B.-Da una velocidad o rapidez en la obtención de los resultados reales y verídicos.
- C.-Este trabajo es factible de usarse en un proceso manual en un laboratorio de análisis bioquímicos clínicos, así como en aparatos automáticos de auto-análisis.

TEMA VIII.2 CONCLUSIONES:

- A la luz de los datos obtenidos, puede decirse que la evaluación, considerando, el método micro analítico propuesto es adecuado y conveniente para evaluar las enzimas TGO (E.C.-2611) y TGP (E.C.-2612) en sus diferentes diluciones a realizar en ambas enzimas a trabajar.
- El método propuesto "dilución sin diluyente" si funciona; ya que se obtienen resultados similares, en los dos procedimientos usados con diluyente, así como el procedimiento dilución sin diluyente en cada uno de los sueros usados, para visualizar la discrepancia de los métodos.
- La ventaja del método es que se pueden dar resultados más rápidos, ya que se anularía tiempo de realizar alguna dilución con algún diluyente (agua, solución salina fisiológica).
- La desventaja primordial es que no se comprenda la microtécnica enzimático para realizarla correctamente.
- El uso de este proceso o microtécnica enzimático en el diagnóstico es de importancia al valorar las enzimas TGO (E.C.2611) y TGP (E.C.2612), para problemas cardiacos y de hígado que son los órganos más importantes para la vivencia del ser humano.

INDICE DE TABLAS

TABLA 1.-Clasificación de la Comisión de enzimas de la Unión Internacional de Bioquímica que clasifica en seis grupos generales, dada por el primer número	11
TABLA 2.-Resumen de concentración de enzimas séricas elevadas de TGO (E.C.-2611) y TGP (E.C.-2612) después de un infarto agudo de miocardio.....	16
TABLA 3.-Resumen de concentración de enzimas séricas elevadas de TGO (E.C.-2611) y TGP (E.C.-2612) en la enfermedad hepática.....	16
TABLA 4.-Factores de conversión de temperatura tabla extrapolada de Henry Col.....	21
TABLA 5.-Resumen de fórmulas, base para la tabla de "ANDEVA".....	23
TABLA 5.1.-TABLA "ANDEVA".....	24
TABLA 6.-Ingredientes existentes en cada vial de reactivo TGO (E.C.-2611).....	27
TABLA 6 bis.-Ingredientes existentes en cada vial de reactivo TGP (E.C.-2612).....	32
TABLA 7.-Valores de referencia de la enzima TGO (E.C.-2611).....	29
TABLA 8.-Valores de referencia a diferentes temperaturas de la enzima TGO (E.C.-2611).....	29
TABLA 9.-Datos utilizados en el procedimiento para la enzima TGO (E.C.-2611).....	29
TABLA 10.-Valores de referencia de la enzima TGP (E.C.-2612).....	33
TABLA 11.-Valores de referencia a diferentes temperaturas de la enzima TGP (E.C.-2612).....	34
TABLA 12.-Datos utilizados en el procedimiento para la enzima TGP (E.C.-2612).....	34
TABLAS EXPERIMENTALES	
TABLA 13.-Tabla experimental de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero problema 1"; método: sin diluyente, solo reduciendo la cantidad de suero de cada suero diluido.....	42
TABLA 14.-Tabla experimental de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero problema 1"; método: con solución, salina fisiológica en cada suero diluido.....	43
TABLA 15.-Tabla experimental de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero problema 1"; método: con solución, agua bidestilada en cada suero diluido.....	44
TABLA 16.-Datos de velocidades iniciales, de los tres métodos trabajados y de cada una de las diluciones usadas, de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero problema 1".....	45
TABLA 17.-Tabla de "ANDEVA", donde se obtiene el valor del estadístico "F" de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero problema 1".....	46
TABLA 18.-Tabla experimental de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero problema 2"; método: sin diluyente, solo reduciendo la cantidad de suero en cada suero diluido.....	47
TABLA 19.-Tabla experimental de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero problema 2"; método: con solución, salina fisiológica en cada suero diluido.....	48
TABLA 20.-Tabla experimental de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero problema 2"; método:	

con solución, agua bidestilada en cada suero diluido.....	49
TABLA 21.-Datos de velocidades iniciales, de los tres métodos trabajados y de cada una de las diluciones usadas, de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero problema 2".....	50
TABLA 22.-Tabla de "ANDEVA", donde se obtiene el valor del estadístico "F" de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero problema 2".....	51
TABLA 23.-Tabla experimental de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero test point control 1" método: sin diluyente, solo reduciendo la cantidad de suero en cada suero diluido.....	52
TABLA 24.-Tabla experimental de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero test point control 1" método: con solución, salina fisiológica en cada suero diluido.....	53
TABLA 25.-Tabla experimental de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero test point control 1" método: con solución, agua bidestilada en cada suero diluido.....	54
TABLA 26.-Datos de velocidades iniciales, de los tres métodos trabajados y de cada una de las diluciones usadas, de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero test point control 1".....	55
TABLA 27.-Tabla de "ANDEVA", donde se obtiene el valor del estadístico "F" de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero test point control 1".....	56
TABLA 28.-Tabla experimental de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero test point control 2" método: sin diluyente, solo reduciendo la cantidad de suero en cada suero diluido....	57
TABLA 29.-Tabla experimental de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero test point control 2" método: con solución, salina fisiológica en cada suero diluido.....	58
TABLA 30.-Tabla experimental de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero test point control 2" método: con solución, agua bidestilada en cada suero diluido.....	59
TABLA 31.-Datos de velocidades iniciales, de los tres métodos trabajados y de cada una de las diluciones usadas, de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero test point control 2".....	60
TABLA 32.-Tabla de "ANDEVA", donde se obtiene el valor del estadístico "F" de la enzima TGO (E.C.-2611) con "suero test point control 2".....	61
TABLA 33.-Tabla experimental de la enzima TGP (E.C.-2612) con "suero problema 1" método: sin diluyente, solo reduciendo la cantidad de suero en cada suero diluido....	63
TABLA 34.-Tabla experimental de la enzima TGP (E.C.-2612) con "suero problema 1" método: con solución, salina fisiológica en cada suero diluido.....	64
TABLA 35.-Tabla experimental de la enzima TGP (E.C.-2612) con "suero problema 1"; método: con solución, agua bidestilada en cada suero diluido.....	65
TABLA 36.-Datos de velocidades iniciales, de los tres métodos trabajados y de cada una de las diluciones usadas, de la enzima TGP (E.C.-2612) con "suero problema 1".....	66
TABLA 37.-Tabla de "ANDEVA", donde se obtiene el valor del estadístico "F" de la enzima TGP (E.C.-2612) con "suero problema 1".....	67
TABLA 38.-Tabla experimental de la enzima TGP (E.C.-2612) con "suero problema 2";	

método: sin diluyente, solo reduciendo la cantidad de suero en cada suero diluido.....	68
TABLA 39.-Tabla experimental de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero problema 2"	
método: con solución, salina fisiológica en cada suero diluido.....	69
TABLA 40.-Tabla experimental de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero problema 2"	
método: con solución, agua bidestilada en cada suero diluido.....	70
TABLA 41.-Datos de velocidades iniciales, de los tres métodos trabajados y de cada una de las diluciones usadas, de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero problema 2".....	71
TABLA 42.-Tabla de "ANDEVA", donde se obtiene el valor del estadístico "F" de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero problema 2".....	72
TABLA 43.-Tabla experimental de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero test point control 1"	
método: sin diluyente, solo reduciendo la cantidad de suero en cada suero diluido.....	73
TABLA 44.-Tabla experimental de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero test point control 1"	
método: con solución, salina fisiológica en cada suero diluido.....	74
TABLA 45.-Tabla experimental de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero test point control 1"	
método: con solución, agua bidestilada en cada suero diluido.....	75
TABLA 46.-Datos de velocidades iniciales, de los tres métodos trabajados y de cada una de las diluciones usadas, de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero test point control 1".....	76
TABLA 47.-Tabla de "ANDEVA", donde se obtiene el valor del estadístico "F" de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero test point control 1".....	77
TABLA 48.-Tabla experimental de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero test point control 2"	
método: sin diluyente, solo reduciendo la cantidad de suero en cada suero diluido.....	78
TABLA 49.-Tabla experimental de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero test point control 2"	
método: con solución, salina fisiológica en cada suero diluido.....	79
TABLA 50.-Tabla experimental de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero test point control 2"	
método: con solución, agua bidestilada en cada suero diluido.....	80
TABLA 51.-Datos de velocidades iniciales, de los tres métodos trabajados y de cada una de las diluciones usadas, de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero test point control 2".....	81
TABLA 52.-Tabla de "ANDEVA", donde se obtiene el valor del estadístico "F" de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero test point control 2".....	82
INDICE DE FIGURAS	
FIGURA 1.-Mecanismo aleatorio de reacciones enzima-coenzima.....	13
Figura 2.-Mecanismo ordenado de reacciones enzima-coenzima.....	13
Figura 3.-Mecanismo ping-pong de reacciones enzima-coenzima.....	13
FIGURA 4.-Diferentes productos protonados según el pH de las formas; E, EH, EH ₂	20
FIGURA 5.-Mecanismo químico basado en la metodología de la Federación Internacional de Química Clínica para la enzima TGP(E.C.-2611).....	27

FIGURA 6.-Mecanismo químico basado en la metodología de la Federación Internacional de Química Clínica para la enzima TGP(E.C.-2612).....	32
INDICE DE CUADROS	
CUADRO 1.-Clasificación según la Comisión de Enzimas (E.C.) de la Unión Internacional de Bioquímica y sus nombres comunes.....	11
CUADRO 2.-Ejemplo de como se clasifica la enzima TGO(E.C.-2611) y TGP(E.C.-2612) por la Comisión de Enzimas de la Unión Internacional de Bioquímica	12
CUADRO 3.-Contenido histórico de concentración mayor a la menor de la enzima TGO(E.C.-2611) también de la enzima TGP(E.C.-2612) pero en menos proporción.....	15
CUADRO 4.-Evaluación de la calidad por método analítico de la enzima TGO(E.C.-2611) ..	22
CUADRO 5.-Evaluación de la calidad por método analítico de la enzima TGP(E.C.-2612) ..	22
CUADRO 6.-Fórmula para el cálculo de la actividad de la enzima TGO(E.C.-2611) en unidades/litro U/L.....	30
CUADRO 7.-Fórmula para el cálculo basal de la actividad de la enzima TGO(E.C.-2611) en nanokatal/litro (nKat/L).....	30
CUADRO 8.-Procedimientos alternos para el cálculo de la actividad enzimática de la enzima TGO(E.C.-2611).....	31
CUADRO 9.-Formulación base y de apoyo para obtener los factores de corrección.....	36
CUADRO 10.-Obtención de la fórmula donde se relaciona el "FACTOR DE CORRECCION".....	37
CUADRO 11.-Resumen de los factor por volumen obtenidos dependiendo la dilución usada.	39
CUADRO 12.-Resumen de los factores por dilución obtenidos dependiendo la dilución usada.....	40
CUADROS EXPERIMENTALES	
CUADRO 13.-Resumen de datos de análisis estadístico clasificados para efectuar la siguiente tabla andeva, de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero problema 1".....	46
CUADRO 14.-Resumen de datos de análisis estadístico clasificados para efectuar la siguiente tabla andeva, de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero problema 2".....	51
CUADRO 15.-Resumen de datos de análisis estadístico clasificados para efectuar la siguiente tabla andeva, de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero test point control 1".	56
CUADRO 16.-Resumen de datos de análisis estadístico clasificados para efectuar la siguiente tabla andeva, de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero test point control 2".	61
CUADRO 17.-Resumen de datos de análisis estadístico clasificados para efectuar la siguiente tabla andeva, de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero problema 1".....	67
CUADRO 18.-Resumen de datos de análisis estadístico clasificados para efectuar la siguiente tabla andeva, de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero problema 2".....	72
CUADRO 19.-Resumen de datos de análisis estadístico clasificados para efectuar la	

siguiente tabla andava, de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero test point control 1".	77
CUADRO 20.-Resumen de datos de análisis estadístico clasificados para efectuar la siguiente tabla andava, de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero test point control 2"..	82
CUADRO 21.-Cuadro resumen: de resultados de las enzimas TGO(E.C.-2611) Y TGP(E.C.-2612).....	83
INDICE DE GRAFICAS	
GRAFICA 1.-Espectros de absorción de la coenzima: coenzima I(NAD) oxidada coenzima 2 (NADH) reducida.....	14
GRAFICA 2.-Contenido enzimático en unidades gramo, de cada órgano de la enzima correspondiente TGO(E.C.2611).....	14
GRAFICA 3.-Contenido enzimático en unidades gramo, de cada órgano de la enzima correspondiente TGP(E.C.2612).....	15
GRAFICA 4.-Efecto de una enzima sobre la energía de activación y la energía libre de una reacción química.....	17
GRAFICA 5.-Curva que representa el progreso de una reacción enzimática en la que el sustrato se convierta en productos.....	18
GRAFICA 6.-Curvas obtenidas de un suero con enzimas en concentración alta que puede representar tanto una enzima como otra , sea TGO(E.C.-2611) y TGP(E.C.-2612).....	18
GRAFICA 7.-Curva campana que resulta de una actividad enzimática (velocidad-máxima) que es afectada por el pH.....	19
GRAFICA 8.-Efecto de la concentración inicial del sustrato sobre la velocidad de reacción catalizada enzimáticamente, en donde se mantiene constante la concentración de la enzima.....	22
GRAFICAS EXPERIMENTALES	
GRAFICA 9.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de líneas, de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero problema 1".....	45
GRAFICA 9 bis.-Se integran los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de barras, de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero problema 1".....	46
GRAFICA 10.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de líneas de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero problema 2".....	50
GRAFICA 10 bis.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de barras de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero problema 2".....	51
GRAFICA 11.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de líneas de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero test point control 1".....	55
GRAFICA 11 bis.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de barras de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero test point control 1".....	56

GRAFICA 12.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de líneas de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero test point control 2".....	60
GRAFICA 12 bis.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de barras de la enzima TGO(E.C.-2611) con "suero test point control 2".....	61
GRAFICA 13.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de líneas de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero problema 1".....	66
GRAFICA 13 bis.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de barras de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero problema 1".....	67
GRAFICA 14.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de líneas de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero problema 2".....	71
GRAFICA 14 bis.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de barras de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero problema 2".....	72
GRAFICA 15.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de líneas de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero test point control 1".....	76
GRAFICA 15 bis.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de barras de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero test point control 1".....	77
GRAFICA 16.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de líneas de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero test point control 2".....	81
GRAFICA 16 bis.-Se integra los tres métodos con los datos de velocidades iniciales en la gráfica de barras de la enzima TGP(E.C.-2612) con "suero test point control 2".....	82

GLOSARIO:

Actividad enzimática.-Esta relacionada con el trabajo que realizan las enzimas. En una prueba enzimática se puede determinar la actividad como gradiente de productos (productos en aumento) o bien gradientes de sustratos (sustrato en disminución).

Según cual sea analíticamente más conveniente , a menudo el producto o sustrato tiene color, si esto es así, se puede determinar cuantitativamente mediante colorimetría y/o espectrofotometría.

La concentración de la coenzima (NAD no absorbe a 340 nm, NADH₂ absorción máxima a 340nm).

Acción enzimática específica.- Las enzimas poseen una especificidad con respecto al sustrato (sustancia sobre la que se actúa) y al efecto (acción química).

Análisis estadístico.- Definiciones:

-Una rama de las matemáticas que trata de la recolección, el análisis, la interpretación y la presentación de una gran cantidad de datos numéricos.

-La estadística es la rama del método científico que trata de los datos reunidos al contar o medir las propiedades de alguna población.

-La estadística trata con métodos para obtener conclusiones a partir de los resultados de los experimentos o procesos.

-El conocimiento relacionado con el tomar decisiones en situaciones de incertidumbre.

Apoenzima.- Es la porción proteica sujeta a desnaturalización como todas las proteínas.

Esta desnaturalización, debida a agentes físicos y químicos, se asocia con una pérdida de la actividad enzimática.

Amiloluciferina.- Enzima que ocupa dos sitios diferentes en la célula, ejemplo TGO (E.C.-2611) que se encuentra en el citoplasma y mitocondria.

Biosíntesis.- Reacciones químicas mediante las cuales una célula construye las moléculas que necesita a partir de otras moléculas presentes.

Catabolismo.- Reacciones metabólicas que intervienen en la desintegración de moléculas complejas para formar compuestos más simples. La función de las reacciones catabólicas es suministrar energía , la cual se utiliza para la síntesis de nuevas estructuras, para el trabajo (contracción muscular), para la transmisión de impulsos nerviosos, y para mantenerla eficacia funcional.

Catálisis enzimática.- Es la acción que ejerce la actividad enzimática sobre los sustratos y que va a producir productos.

Celdillas de cuarzo.- Por razones delineadas previamente, muchos de los métodos para el análisis de las enzimas séricas están basados sobre la medida espectrofotométrica en las regiones visibles o ultravioletas del espectro.

La fuente más grande de error en tales técnicas es indudablemente el no usar sostén

termostático para las cubetas. El paso de los compuestos en reacción del baño de María a la cubeta, tiene como resultado una caída de temperatura, seguida de un aumento causado por el rayo luminoso que pasa a través de la celdilla de cuarzo.

Cambios similares se provoca con la apertura y el cierre de la tapa del compartimento de la celdilla. Resulta obvio que tales cambios en la temperatura de los compuestos en reacción tendrán un efecto más pronunciado en procedimientos en los cuales la reacción está siendo monitoreada a varios intervalos de tiempo que es un proceso en el cual se permite que la reacción discurra durante un tiempo definido, bajo condiciones de temperatura gobernada antes que se cuantifique algún producto de la citada reacción.

Otras fuentes posibles de error con los métodos espectrofotométricos, tales como el dejar huellas digitales en las celdillas y errores en la fijación de las longitudes de onda en el aparato, no deben ser comentadas.

Cirrosis.- Manifestaciones morfológicas esenciales de la cirrosis son:

- 1.- Aumento en el tejido fibroso.
- 2.- Regeneración nodular.

Produce una distorsión progresiva del lecho vascular hepática y la desorganización de la arquitectura lobulillar normal. Se cree que el precursor básico de la cirrosis es la muerte difusa de las células hepáticas.

Coenzima.- (Función de), es la porción dializable y es un tipo de sustrato esencial en la actividad catalítica. Está estrechamente ligada a la enzima y ciertamente no es una proteína.

Coenzimas como segundo sustrato. La coenzima puede considerarse como un segundo sustrato o cosustrato:

- 1.- Los cambios químicos en la coenzima comienzan exactamente o los que se realizan en el sustrato.

En las reacciones de transaminación, el fosfato de piridoxal actúa como un segundo sustrato en dos reacciones combinadas y como portador para la transferencia de un grupo amino entre diferentes alfa cetoácidos.

- 2.- El aspecto de las reacciones es el que se puede ser de significado fisiológico fundamental, ejemplo:

La importancia de la capacidad del músculo que trabaja en medio anaerobio para convertir el piruvato en lactato no reside en el piruvato ni en el lactato mismos sino en la conversión resultante del NADH en NAD⁺. Sin NAD⁺ la glucólisis no puede continuar y la síntesis anaerobia de ATP y por lo tanto, el trabajo tiene que cesar.

En condiciones anaerobias, la reducción del piruvato en lactato reoxida al NADH y permite la síntesis de ATP

Colisiones efectivas.- Son las interacciones físicas intramoleculares en solución al aumentar la temperatura aumentan estas.

Coloidal.- De la familia coloide, coloides, coloideo: dice de la mezcla producida al dispersar una sustancia en un medio homogéneo (gaseoso, líquido o sólido) cuando el tamaño de las partículas dispersas está comprendido entre una décima y una milésima de micra.

Dializable.- Es una sustancia o elemento en solución molecular o iónica de moléculas en dispersión coloidal que se puede separar por centrifugación precipitación (el sobrenadante contiene los componentes dializados o dializables), filtración (los componentes dializables o dializados pasan a través de la membrana).

Desnaturalización.- Las fuerzas comparativamente débiles responsables de mantener las estructuras secundarias, terciarias y cuaternarias de las proteínas son fácilmente destruidas con la correspondiente pérdida de la actividad biológica. Esta destrucción de la estructura nativa se denomina desnaturalización. En la forma física la desnaturalización puede observarse como una conformación aleatoria de una cadena polipeptídica sin que se afecte su estructura primaria.

La actividad biológica de la mayor parte de las proteínas es destruida por la exposición a ácidos o bases minerales fuertes, calor, detergentes iónicos (anfipáticos), agentes caotrópicos (urea, guanidina), metales pesados (plata, plomo y mercurio) o solventes orgánicos.

Enfermedad crónica.- Enfermedad de larga duración a menudo progresa lentamente y nunca cura del todo.

Enfermedad aguda.- Enfermedad de iniciación relativamente abrupta con síntomas evidentes de duración limitada.

Estuches para análisis enzimático.- El gran número de reactivos que se requiere para la mayoría de los análisis de enzimas, junto con su costo y frecuente inestabilidad determinan que muchos análisis sean muy costosos, a no ser que se realicen en cantidades razonables y a intervalos frecuentes.

Numerosas compañías surten ahora los reactivos necesarios en forma de estuches, esto a permitido a muchos laboratorios llevar al cabo análisis de las enzimas séricas más comúnmente determinadas, con un mínimo de equipo y de habilidad técnica, si alguna crítica se ha de hacer a este enfoque, se funda en la sobre simplificación tiende a resultar en la realización de tales procedimientos colocados en manos inexpertas y en que se insiste lo suficiente sobre la necesidad de llevar al cabo cotejos adecuados cuando sea posible.

Glosario.- Diccionario de palabras poco corrientes.

Grupos prostéticos.- Son no proteínas, llamados cofactores o coenzimas ligados a la proteína para realizar la función catalítica, el término "grupo prostético" denota a las

coenzimas unidas en forma covalente ejemplos: oxidoreducciones, transferencia de grupo e isomerización.

Hepatitis crónica.- Son episodios recurrentes.

Hepatitis A no produce cronicidad

Hepatitis B cronicidad del 5 al 10% de los casos.

Hepatitis no- A, no- B cronicidad del 10 al 50% de los casos.

Hepatitis aguda.- Es una infección sistémica que afecta predominantemente al hígado.
(ver hepatitis crónica).

Infarto al miocardio.- Llamado infarto agudo al miocardio, se producen tres alteraciones fisiopatológicas, bien sea sucesivamente: isquemia, lesión e infarto.

Lactato deshidrogenasa.- Se usa para consumir el piruvato sanguíneo presenta y que va a reaccionar con el NADH_2 .

Se han encontrado varias isozimas de esta y tienen importancia clínica.

Malic deshidrogenasa.- Se usa para consumir el oxalacetato producido y que va a reaccionar con el NADH_2 (medible en el espectrofotómetro).

Metástasis hepática.- Es cáncer hepático, una característica importante de algunas células neoplásicas es su capacidad de diseminarse a sitios distantes, es decir, de dar metástasis.

Necrosis celular.- Llamada necrosis hepática celular, necrosis hepática subaguda, necrosis subaguda o confluyente; con ésta lesión se encuentran "puentes" entre los lóbulos por que la necrosis produce grandes áreas de destrucción de celdillas hepáticas, con colapso de la trama de reticulina, el "puente" consiste en retículo condensado, restos inflamatorios y celdillas hepáticas degeneradas que se extienden sobre las áreas porta adyacentes, entre la vena porta y central, o entre una vena central y otra.- Se piensa que esta lesión tiene importancia pronóstica porque un número importante de individuos afectados puede tener un curso subagudo que termina con la muerte en pocas semanas o meses, o desarrollar hepatitis activa crónica y cirrosis postnecrótica.

Necrosis hepática.- Lisis o muerte de células hepáticas.

Necrosis miocárdica.- Es una destrucción de células del corazón y ejerce una influencia a todo el cuerpo (el corazón bombea sangre a todo el cuerpo) que puede llegar a causar la muerte del individuo.

Nombre que reciben las coenzimas.-

Coenzima I = nicotinamida- adeninucleótido (NAD^+)

Difosfopiridín nucleótido (DPN^+) = (NAD^+)

Coenzima II = nicotinamida - adenin dinucleótido fosfato (NADP^+)

Trifosfogopiridina nucleotido (TPN⁺) = (NADP⁺)

Para la transferencia de grupos distintos del hidrógeno:

- Fosfatos de azúcares
- CoA- SH
- Pirofosfato de tiamina
- Fosfato de piridoxal
- Coenzimas del folato
- Biotina
- Coenzimas de cobalamida (B₁₂)
- Acido lipicoo

Para la transferencia del hidrógeno:

-NAD⁺ NADP⁺ FMN FAD Acido lipicoo Coenzimas Q

Algunas oxidoreductasas funcionales en los procesos biosintéticos de los sistemas de mamíferos por ejemplo: en la síntesis de ácidos grasos o esteroides tienden a usar NADPH como reductor.

Mientras que las funcionales en los procesos de degradación por ejemplo: la glucólisis, la oxidación de los ácidos grasos tienden a usar NAD⁺ como oxidante.

Organoespecifica.- Enzima que se encuentra en mayor concentración en un órgano, ejemplo: deshidrogenasa hidroxibutírica en el corazón.

Parámetro.- Por definición límite o medida para comparar otras magnitudes, en este trabajo la modificación de volumen con relación al suero usado.

FECEL.- Programa de Evaluación de la Calidad Entre Laboratorios.

Polttraumatizados.- Se define por lesiones internas o externas múltiples que se pueden encontrar en todo el cuerpo o parte de él, provocada por una violencia exterior o choque automovilístico.

Proteínas complejas.- Compuestos por grupos prostéticos y proteína específica, la disociación de estas dos entidades causa inactivación, ninguno de los dos componentes es por sí solo una enzima, las enzimas complejas se pueden considerar de la siguiente manera:

HOLOENZIMA = APOENZIMA + COENZIMA

nota, ver definiciones: apoenzima y coenzima.

Proteínas simples.- Es aquella que no necesita grupo prostético

Reactantes.- Compuestos que al unirlos o mezclarlos reaccionan entre si o sea que dan una reacción química para producir productos.

Substrato.- Sustancia sobre la cual actúa una enzima llamado también reactantes.

Temperatura normal.- Es aquella relacionada con la temperatura de los organismos valor

medio 37°C también llamada temperatura óptima de subsistencia.

Temperatura óptima.- Es la temperatura adecuada para que se ejerza la actividad enzimática de las enzimas.

Temperatura real.- Es aquella temperatura donde se lleva a cabo las reacciones químicas "IN VITRO" o temperatura de trabajo en el laboratorio.

TEST POINT.- Punto de análisis o prueba conocido.

TGO(E.C.-2611).- TGO es la abreviatura de transaminasa glutámico oxalacética junto con la clasificación que le corresponde de la Comisión de Enzimas de la Unión Internacional de Bioquímica.

TGP(E.C.-2612).- TGP es la abreviatura de transaminasa glutámico pirúvica junto con la clasificación que le corresponde de la Comisión de Enzimas de la Unión Internacional de Bioquímica.

Unilocular.- Se define como la enzima que ocupa un único sitio, ejemplo TGP (E.C.- 2612), solo se encuentra en el citoplasma celular.

Velocidad máxima.- Es aquella donde se da la máxima cantidad de productos de reacción en menor tiempo posible.

Vial.- Pequeño frasco de vidrio, con tapón de goma y precinto generalmente de aluminio.

Este sistema de cierre posibilita la dosificación fraccionada del contenido que puede tomarse por vía oral, o inyectarse por vía intravenosa o intramuscular. También se pueden usar para mantener la mezcla de reactivos con un buffer adecuado y al hidratar con la cantidad de agua indicada en el marbete para análisis bioquímicos clínicos de estudios de enzimas.

Vidriaría.- Como se debe de lavar y mantener la vidriaría, aunque se han usado variedad de detergentes con éxito en el aislamiento de algunas proteínas enzimáticas, particularmente cuando éstas se hallan unidas a varias fracciones celulares tales como las mitocondrias, debe evitarse el uso de estas clases de compuestos en la limpieza de la vidriaría. Esto se debe a que algunas enzimas son inhibidas por los detergentes y también a la posibilidad de interferencias en los análisis, particularmente aquellos en los cuales a la reacción siga la medición de la región ultravioleta del espectro.

Ya que los metales pesados tienen un marcado efecto inhibitorio sobre las enzimas, no se deberá usar la mezcla cromica para la limpieza, excepto en raras ocasiones y solo si las huellas que quedan sobre la vidriaría.

Las huellas de proteínas se eliminan mejor con un lavado de jabón y agua, seguido por una inmersión durante unas pocas horas en ácido clorhídrico diluido, después de este tratamiento se enjuaga bien la vidriaría con agua, después con agua destilada y se seca.

BIBLIOGRAFIA

- 1).-E. METZLER DAVID;Bioquímica, las reacciones químicas en las células vivas. 1991
- 2).-E. COHN ERIC/P.K. STUMPF;Bioquímica fundamental segunda edición 1963
- 3).-R. WALKER HENRY/H.COODES EUGENE;Química biológica 1971
- 4).-M.D.JOHN BERNARD HENRY; Diagnostico y tratamiento
- 5).-J.H. NORTHROP; Crystalline enzymes Columbiauniversity press. Nueva York 1939
- 6).-D. SHUGAR; Enzymes and isoenzymes, structure, properties and function. vol. 18 New York, academic press, inc. 1970
- 7).-K. MURRAY ROBERT; Bioquímica de Harper undecima edición 1989
- 8).-A. AND SOMER H. KOTTITZ;.:Specificity of serum creatin kinase isoenzymes in diagnosis of acute myocardial infarction, Br. med.J. I;386,1973
- 9).-R. ROBERTS.:Creatine kinase isoenzymes as diagnostic and prognostic indices of myocardial infarction. in rattazzi, m. scandalios,J. G., and whitt, G.S.(eds).:Isozymes:Current topics in biological and medicine research, vol. 8 New York. alan R. liss Inc.,1979.pp 115-154.
- 10).-ROE, C.R. LINGBIRD, L.E. WAGNER, G.S., AND NERENBERG S.T.:Combined isoenzymes analysis in the diagnosis of myocardial injury: application of electrophoretic methods for the detection and quantation of the creatine phosphokinase M:B:isoenzymes. J las. clin. med. 80:557,1972
- 11).-WROBLEWSKI, F.:Clinical significance of alterations in Transaminase activities of serum and other body fluids. Adv. Clin. Chem.,I.313.1958
- 12).-WAGNER, A.F., Y FOLKERS,K:Vitamins and coenzymes. interscience publishers, John Wiley & Sons, New York, cap.11 Wagner, a.f. y Folkers, k.:Vitamins and coenzymes. John Wiley & Sons New York 1964
- 13).-Commission on enzymes, international union of biochemistry (IUB) Symposium series, vol. 20 pergamon press. New York 1961. Enzymes nomenclature, Recommendations, 1964. of the international union of biochemistry, elsevier Publishing Co. New York 1965, Science, 150,719,1965.
- 14).-Wacker, W.E.C. ULMER, D.D., AND VALLEE, B.L.:metalloenzymes and myocardial: infarction, N Engl. J. Med. 255:449.1956
- 15).-G. PETERSDORF ROBERT: Principios de medicina interna sexta edición 1983
- 16).-ADVINEN, S.:Evaluation of serum enzyme tests in the diagnosis of acute myocardial infarction Acta med. Scand. (Suppl. 539) . 1972
- 17).-GALEN, R.S.:The enzymes diagnosis of myocardial infarction, Hum. Path.,6:141,1975a.
- 18).-GALEN, R.S.:REIFFEL, J.A.,AND GAMBINO, S.R.:Diagnosis of acute myocardial infarction: Relative efficiency of serum enzyme and isoenzyme measurement. J:A:M:A.,232:145,1975b.

- 19).-KONTINEN, A.:Serum enzymes as indicators of hepatic disease. Scand. J gastroent., 6: 667,1971
- 20).-SKRDE, S. BLOSGOFF, AND GJONE, E.:Biochemical FEATURES of acute and chronic hepatitis Ann. Clin. Res.,8:182,1976
- 21).-SRIDER, S., BLOSGOFF, J.F.AND GJONE, E.:Biochemical features of acute and chronic hepatitis Ann. Clin. Res.,8:182, 1976
- 22).-WALLACH JACQUES: Interpretación de los diagnosticos de laboratorio. Segunda edición 1981
- 23).-A.MCALLISTER RONALD: Enzymes and the determination of enzymes activity 1975
- 24).-PROGRAMA FECEL/IPH/UDAM: de evaluación de de calidad entre laboratorios., LAB. acta:6:58-62,1994
- 25).-FOLLETOS GILFORD,ALT (SGPT) Reagent;AST (SGOT) Reagent., corporación manufacturado por ciba-corning 132 arting street, uberlin,ohio. 44074. USA
- 26).-MENDERHALL/SCHLAPEYA/WACKERLY.: Estadística matemática., grupo ed.:iberoamericana 1986
- 27).-beckman clinical system 100.: Operating manual, beckman instruments Inc. Fullerton Ca. 92634-3100, Junio 1986, 015-246802. Impreso en USA
- 28).-Cilnipette, Pipeta de embolo de precisión con volumen fijo realizado por Boehringer Mannheim GmbH, Sandhofer, Str. 176-68.00 mannheim 31.
- 29).-G.W.BRADLE, E.L. TATUM Desarrollaron la hipotesis de un gene una enzima
- 30).-WARBURG OTTO, ALDMAN; PUBLICO series de dos coenzimas:
- a).-DPN⁺-coenzima I-esta en la levadura
- b).-TPN⁺-coenzima II-están en los eritrocitos