



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CAMPUS CUAUTITLÁN**

**“PAPEL DEL QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO  
EN EL ÁREA DE DIAGNÓSTICO DE LA SECRETARÍA DE  
MARINA”**

**T R A B A J O P R O F E S I O N A L  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA  
P R E S E N T A:  
CELESTE D'ABRIL RUIZ LEYJA**

**ASESORA.  
M.C. ANDREA ANGELA BECERRIL OSNAYA**



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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: EVALUACION DEL INFORME  
 DEL DESEMPEÑO PROFESIONAL

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



DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO  
 DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
 PRESENTE

DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES  
 ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ  
 Jefe del Departamento de Exámenes  
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 26 del Reglamento General de Exámenes y el art. 66 del Reglamento de Exámenes Profesionales de FESC, nos permitimos comunicar a usted que revisamos EL TRABAJO PROFESIONAL:

"Papel del Químico Farmacéutico Biólogo en el área de diagnóstico clínico de la Secretaría de Marina".

que presenta la pasante: Celeste de D'Abril Ruiz Leyja  
 con número de cuenta: 40202831-6 para obtener el título de :  
 Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios, otorgamos nuestra ACEPTACION

ATENTAMENTE  
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 29 de Mayo de 2007.

PRESIDENTE	MC. Andrea A. Becerril Osnaya	
VOCAL	QFB. René Damián Santos	
SECRETARIO	MC. Ana Laura Vázquez Martínez	
PRIMER SUPLENTE	MC. Ma. Guadalupe Avilés Robles	
SEGUNDO SUPLENTE	QFB. Guadalupe Hernández Torres	

## **DEDICATORIA**

**A mis queridos padres Trini y Romeo porque a ustedes  
debo lo que soy.**

Con cariño a:

***Alethia y Abril***

***Alejandro y Servando***

**\*\*José Luis\*\*\***

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a los profesores de Q.F.B. de la FES Cuautitlán por proporcionarme los medios necesarios para mi formación profesional.

A mi asesora M.C. Andrea Angela Becerril Osnaya por su paciencia y apoyo.

Al comité sinodal por sus valiosos comentarios en la elaboración de este trabajo.

A la Secretaría de Marina Armada de México por facilitar la elaboración del mismo.

A la Doctora Sandra Díaz Barriga por su manifiesto interés en mi desarrollo profesional y por sus invaluable consejos.

A mis compañeros generación 29 de Q.F.B.

## CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN.....	7
II.	OBJETIVO.....	9
III.	DESEMPEÑO PROFESIONAL.....	10
	A) LLEGADA AL LABORATORIO CLINICO.....	10
	B) PRIMERAS IMPRESIONES DEL LABORATORIO CLINICO.....	11
	C) EL LABORATORIO CLINICO.....	11
	• RECEPCION.....	12
	• TOMA DE MUESTRA.....	13
	• HEMATOLOGÍA.....	18
	• BIOQUIMICA CLINICA.....	24
	• SEROLOGIAS.....	29
	• UROLOGIA.....	42
	D) CONTROL DE CALIDAD.....	59
	E) BIOSEGURIDAD.....	68
IV.	CONCLUSIONES.....	72
V.	GLOSARIO.....	73
VI.	REFERENCIAS.....	75

## I. INTRODUCCIÓN

El desempeño profesional del Químico Farmacéutico Biólogo en su no se limita a una sola área ya que es un profesionalista versátil por llamarlo de alguna manera, con las bases necesarias para desarrollarse en campos diversos como son la docencia, el control de calidad, áreas administrativas, investigación, laboratorios de análisis clínicos y en el ámbito farmacéutico, por citar algunos ejemplos.

Este trabajo aborda las actividades realizadas en una de las áreas donde el Químico Farmacéutico Biólogo puede desarrollarse: el laboratorio de análisis clínico, específicamente el de la Clínica Naval del Sur, donde inicié mi trayectoria laboral siendo aún estudiante y en el que actualmente sigo desempeñándome.

Durante mi estancia en el laboratorio de diagnóstico de la Clínica Naval del Sur, experimenté muchas dificultades entre ellas la falta de experiencia y de conocimientos esenciales con respecto a técnicas y manejo de equipos, pero gracias al apoyo brindado por el personal más experimentado, alcancé el nivel necesario para formar parte del equipo de trabajo de dicho laboratorio y simultáneamente reafirmar y poner en práctica mis conocimientos.

Los avances tecnológicos como la automatización y el uso de estuches diagnósticos han reducido considerablemente el tiempo de análisis pero también han reemplazado a los recursos humanos. Por tal motivo, el recién egresado debe quitarse la duda de si posee los conocimientos para operar y siendo más preciso para realizar pruebas diagnósticas en un laboratorio clínico, por que los posee; la tecnología ahí está, el personal técnico lo tiene también, los procesos de análisis son relativamente fáciles, los conocimientos de operación de equipos se adquieren con el uso de los mismos; lo importante es que como profesionalista posea la capacidad de interpretar resultados y detectar irregularidades en cualquier ámbito del laboratorio: desde alguna alteración en un examen general



de orina hasta ¿por qué el equipo de química clínica no da resultados confiables?. Es de suma importancia estar conscientes de que nuestra función como profesionistas no es operativa fundamentalmente, sino de resolución de problemas y toma de decisiones.

En este trabajo muestro brevemente mi experiencia laboral en el laboratorio clínico, algunas dificultades por las que pasé y cómo contribuyeron a mi formación profesional siendo estudiante; describo la forma de trabajo, los procedimientos de análisis, técnicas utilizadas y de manera general los fundamentos químicos, bioquímicos y fisicoquímicos del funcionamiento de los equipos y los estuches de pruebas rápidas para el diagnóstico que he utilizado; así mismo presento algunas sugerencias aplicables no sólo en éste, sino en cualquier otro laboratorio de diagnóstico para dar un mejor servicio pero sobre todo llevar un control de calidad eficiente y proporcionar datos confiables.

El realizar un trabajo sobre el desempeño profesional del Químico Farmacéutico Biólogo en el área de diagnóstico clínico, es una opción de titulación pero también un material valioso que al estudiante o al futuro profesionista servirá como referencia abriéndole un panorama acerca de los campos laborales donde podrá desempeñarse y cuáles son las actividades que llevará a cabo en dichos campos.

## II. OBJETIVO GENERAL

Presentar la experiencia profesional en el laboratorio clínico de diagnóstico, como aplicación de los conocimientos adquiridos durante mi formación y como una de las opciones para el desarrollo profesional del Químico Farmacéutico Biólogo.

## **I. DESEMPEÑO PROFESIONAL**

### **A) LLEGADA AL LABORATORIO CLÍNICO**

A finales del cuarto semestre en la Facultad se me presenta la oportunidad de ingresar a la Secretaría de Marina Armada de México (SEMAR); mediante un convenio, el cual, dada mi condición de estudiante establecía accesibilidad en cuanto a horarios, permitiéndome así, continuar con mis estudios y simultáneamente poner en práctica los conocimientos adquiridos durante mi formación.

El 3 de mayo del 2002 fui dada de alta en el Servicio Activo de esta Institución. De primera instancia se me designó encargada de farmacia de una sección sanitaria ubicada dentro de las instalaciones centrales de la SEMAR en el Distrito Federal, en la cual, como sección sanitaria, se atendían necesidades médicas básicas requeridas por el personal que ahí laboraba, tales como: enfermedades y lesiones menores. En poco menos de un año, la demanda de pacientes no sólo internos sino también derechohabientes, hizo que surgiera la necesidad de convertir esa pequeña sección sanitaria en una clínica la cual requeriría de médicos especialistas y de un laboratorio de análisis clínicos. Tras la certificación, la clínica fue llamada Clínica Naval del Sur (CLINAVSUR).

Se inicia el acondicionamiento del espacio que ocuparía el laboratorio, así como la adquisición de equipos, reactivos y algunos estuches de pruebas diagnósticas, tarea llevada a cabo por el Químico Clínico que a la fecha es el responsable del laboratorio.

Una vez inaugurado el laboratorio y atendiendo a las necesidades del servicio me comunican el cambio de área y es así como me integro al equipo de analistas del laboratorio de la Clínica Naval del Sur.

## **B) PRIMERAS IMPRESIONES DEL LABORATORIO CLÍNICO**

El laboratorio en un principio proporcionaba el servicio de 7:00 a.m. a 14:30 p.m. de lunes a sábado, sin embargo casi inmediatamente surgió la necesidad del servicio vespertino con horario de 14:30 a 20:00 hrs. para atender urgencias, distribuyéndose el personal de la siguiente forma: cinco analistas por las mañanas y uno por las tardes.

El entorno me resultó satisfactorio, yo no contaba con mucha experiencia, pero existía un ambiente mutuo de enseñanza y apoyo, además el lugar era cómodo y se contaba con lo necesario para poner en práctica mis conocimientos.

Actualmente y, a cerca de tres años de su apertura, el laboratorio sigue manejando las cuatro áreas de análisis con las que se inició: Bioquímica Clínica, Hematología, Urología y Serología, en las cuales ha elevado su eficiencia y calidad en el diagnóstico y seguramente seguirá mejorando.

## C) EL LABORATORIO CLÍNICO

El término laboratorio clínico se utiliza para designar a los laboratorios de un centro de asistencia de salud, e incluye servicios o secciones de hematología, bioquímica, microbiología, inmunología y banco de sangre; También forman parte del mismo, el laboratorio de urgencias, el área de extracciones y el área de recepción. No existe un patrón de organización para los laboratorios clínicos, su estructura depende del sistema de salud del país, la situación económica de éste o la región, y de la estructura y la gestión del hospital.

El laboratorio clínico tiene por finalidad proporcionar a los médicos los resultados de las pruebas analíticas solicitadas con la mayor exactitud y precisión posible. Asimismo, que los resultados se obtengan en un tiempo adecuado, ya que para la mayoría de las determinaciones hay una relación directa entre tiempo rápido de respuesta y utilidad de la determinación.

El laboratorio de la CLINAVSUR se encuentra organizado en las siguientes áreas para agilizar y optimizar el trabajo, además en cada una de éstas se encuentra un analista como responsable:

- ❖ Recepción
- ❖ Toma de muestra
- ❖ Hematología
- ❖ Química clínica
- ❖ Serología
- ❖ Urología

A continuación describo dichas áreas.

## **RECEPCIÓN DEL PACIENTE**

El encargado de la recepción de pacientes debe estar atento a la llegada de los mismos, ofrecer un trato digno, amable y respetuoso. Asimismo, proporcionar al paciente indicaciones claras y precisas ya sea para su próxima toma de muestra o para la recolección de la misma.

Tras la llegada de un paciente, se le saluda y se le pide su solicitud de estudios de laboratorio. Lo primero que se hace antes de enviarlo al área de extracción o toma de muestra es revisar los estudios solicitados, preguntarle si cumplió con las indicaciones dadas al momento de la cita, verificar sus datos (nombre, edad, matricula y fecha de la cita), asignar un folio de entrada a la solicitud y finalmente si cumple con los requerimientos anteriores, conducir al paciente al cubículo para toma de muestra.

## TOMA DE MUESTRA

En los laboratorios clínicos se analizan una gran variedad de especímenes biológicos: sangre, orina, heces, tejidos, líquido cefalorraquídeo, sinovial, amniótico y otros. Cada espécimen y cada determinación requieren condiciones precisas de obtención, por lo que es fundamental establecer protocolos detallados. La obtención de los especímenes condiciona que la obtención de las mediciones sea correcta.

En este laboratorio se analizan dos fluidos biológicos: sangre y orina. Lo que respecta a la obtención, transporte, procesado y almacenamiento de muestras de orina se tratara posteriormente.

### 1. Obtención de especímenes sanguíneos.

El área destinada a la extracción de los especímenes en un laboratorio clínico debe tener como mínimo las siguientes características:

- ✓ Tamaño adecuado al número de extracciones diarias que se llevan a cabo.
- ✓ Fácil acceso tanto para los pacientes como para el personal.
- ✓ Privacidad.
- ✓ Sillones cómodos y seguros para el paciente, con reposabrazos ajustables para conseguir la posición más adecuada.
- ✓ Material necesario para la obtención de la muestra: Alcohol, torundas, ligaduras, agujas y dispositivos de sujeción, tubos y contenedor de punzocortantes.



**Fig. 1 Cubículo para toma de muestra**



**Fig. 2 Material para extracción de muestra sanguínea**



El responsable de efectuar la flebotomía debe tener los conocimientos necesarios para el realizar el procedimiento, así como los riesgos que el proceso implica para el paciente tomando en cuenta el estado del mismo y el tipo de punción a efectuar. Además, debe estar familiarizado con las posibles complicaciones de las flebotomías y el modo de evitarlas.

La realización adecuada de la extracción de sangre requiere además de los conocimientos técnicos, el mostrar interés por el paciente, por lo que resulta esencial que el flebotomista tenga siempre en cuenta el servicio que está prestando.

Previo a iniciar la venopunción, es preciso indicar al paciente que se sienta en el sillón de extracciones de forma cómoda (el brazo ha de estar firmemente en el apoyabrazos y no debe doblarse por el codo), en todo momento hay que ser franco con él, explicarle qué se le va a hacer, mantenerlo sereno y hacerle ver que si coopera el procedimiento será más rápido y menos molesto. El personal de extracciones debe ser especialmente cuidadoso con pacientes hospitalizados, así mismo, con los niños es básico ganarse su confianza.

Dentro de las obligaciones como flebotomista en el laboratorio de la Clínica Naval del Sur, se incluyen puntos como: presentarse al paciente, corroborar nuevamente los datos y los estudios solicitados; así como que el paciente haya seguido las indicaciones previas a la toma de muestra, mostrar que el material a utilizar es estéril y finalmente, después de la toma de muestra informar cuando estarán los resultados.

Tras la toma de muestra, ésta se transporta a las diferentes áreas de análisis, el recepcionista es el encargado de hacerlo y de comunicar al responsable de cada área, qué muestras son urgentes, las cuales serán las primeras en procesarse y reportarse.

## 2. Metodología para la obtención de especímenes sanguíneos.

La sangre es el fluido corporal más utilizado con fines analíticos. Los tres procedimientos habituales para obtener sangre son:

1. Punción cutánea
2. Punción venosa
3. Punción arterial

En este laboratorio únicamente se realiza la punción venosa y en algunos casos la punción cutánea (por ejemplo en pacientes pediátricos).

La mayoría de los especímenes de sangre venosa se obtienen de las venas del antebrazo, las principales son la cefálica, la mediana cubital y la basílica. Otros sitios son la muñeca y el dorso de la mano o el pie. La técnica utilizada para la punción venosa es la siguiente:

1. Verificar que las etiquetas coincidan con la solicitud de las pruebas.
2. Identificar al paciente comprobando su nombre completo y fecha de nacimiento, RFC ó matrícula en su caso. Si se encuentra inconsciente, verificar su identidad a través de una enfermera o un familiar. No se debe extraer muestra alguna sin identificar adecuadamente al paciente.
3. Si se solicita una muestra en ayunas, debe comprobarse que el paciente no ha ingerido alimentos. Hay que dirigirse al paciente e informarle sobre el procedimiento.
4. Colocar adecuadamente al paciente, según se encuentre sentado o en decúbito prono, para tener acceso fácil a la fosa antecubital.
5. Preparar todo el material, incluidos tubos, ligadura, torundas con alcohol, aguja estéril y el dispositivo para fijarla.

6. Solicitar al paciente que cierre el puño para que las venas resulten más palpables.
7. Seleccionar la vena adecuada para la punción.
8. Limpiar la zona de punción con una torunda humedecida con alcohol isopropílico al 70%. Comenzar en el punto de punción y proseguir la limpieza hacia afuera siguiendo un movimiento espiral.
9. Aplicar un torniquete varios centímetros por encima de la zona de punción. No dejarlo más de un minuto.
10. Fijar la vena tanto, por encima como por debajo del lugar de punción, con ayuda de los dedos pulgar o medio o índice y pulgar.
11. Realizar la venopunción:
  - a) Penetrar la piel con la aguja formando un ángulo de  $15^\circ$  con el brazo y, con el bisel hacia arriba se sigue la dirección de la vena.
  - b) Introducir la aguja con suavidad pero con rapidez para reducir las molestias.
  - c) En cuanto la aguja haya penetrado en la vena se dirigirá el tubo hacia adelante apoyándose en el dispositivo de sujeción. Mantener firmemente la aguja en su lugar.
  - d) Una vez lleno el o los tubos, se retira tomándolo por su extremo y tirando suavemente de él.
  - e) Mezclar la sangre con el anticoagulante por inversión suave.
12. Cuando la sangre comience a fluir liberar el torniquete. Una vez obtenida la muestra, indicar al paciente que relaje el puño y que no “bombee” con la mano.
13. Colocar suavemente una torunda de algodón estéril sobre el punto de punción. Extraer la aguja con un movimiento rápido y a continuación ejercer presión sobre la zona. No aplicar masaje.
14. Comprobar el estado del paciente, verificando si se ha mareado y si la hemorragia está controlada.

En el procedimiento de punción, es importante llevar un orden de extracción para evitar contaminar las muestras con aditivos, por lo que se llenan primero los tubos sin anticoagulante y posteriormente los demás como sigue: citrato, heparina, EDTA, y oxalato-flúor.

## HEMATOLOGÍA

El primer contacto que tuve con el área en este laboratorio fue un frotis sanguíneo. Uno de los químicos colocó una laminilla en el microscopio, me mostró cada célula presente en el frotis y mencionó las principales características para diferenciar unas de otras.

En el laboratorio de la CLINAVSUR contamos con el analizador hematológico AcT 5 Diff de Beckman Coulter, éste utiliza simultáneamente la tecnología AcV (citoquímica de absorbancia volumen) y la metodología LEU/BASO para proporcionar un diferencial leucocitario completo de 5 partes.

La tecnología AcV utiliza la absorbancia, la citoquímica y la impedancia de flujo dirigida. La metodología LEU/BASO utiliza la lisis diferencial, la impedancia y umbrales diferenciales.

### PRINCIPIOS DE DETERMINACIÓN

#### Principio de Coulter

El AcT 5 diff, utiliza el principio de Coulter para analizar la dilución final de eritrocitos/plaquetas y la dilución final de leucocitos/basófilos. Este método electrónico de recuento y determinación del tamaño de partículas se basa en el hecho de que las células, caracterizadas por ser malas conductoras de la electricidad interrumpen un flujo de corriente. La variación de la impedancia generada por el paso de células no conductoras a través de una abertura pequeña calibrada se utiliza para determinar el recuento (número de partículas) y el tamaño (volumen) de las partículas que pasan a través de la abertura en un periodo de tiempo específico.

Un sistema sensor de abertura para eritrocitos/plaquetas determina el recuento y el tamaño de los eritrocitos y las plaquetas. El sistema sensor de abertura para leucocitos/basófilos determina el recuento y el tamaño de los leucocitos. Además, la diferenciación entre basófilos y otros leucocitos está relacionada con la acción lítica específica de un lisante de leucocitos.

#### Resultados obtenidos a partir de la dilución de eritrocitos/plaquetas:

- Recuento de eritrocitos.
- Histograma de eritrocitos, necesario para obtener los resultados de Hct, VCM y ADE.
- Recuento de plaquetas
- Histograma de plaquetas, necesario para obtener los resultados de VMP, Tct y ADP.

#### Determinación de hemoglobina

- La concentración de hemoglobina se basa en la transmitancia de luz a una longitud de onda de 550 nm. La transmitancia de la muestra se compara con la de un blanco reactivo.

#### Resultados obtenidos a partir de la dilución de leucocitos/basófilos

- Conteo de leucocitos
- Histograma de leucocitos/basófilos necesario para obtener el conteo de basófilos.

#### Resultados obtenidos por medio del histograma de eritrocitos

- **Hematocrito:** La altura del impulso generado por el paso de una célula a través de la abertura es directamente proporcional al volumen del eritrocito

analizado. El hematocrito es la suma de todos los impulsos digitalizados. Se da en %.

- **VCM** (Volumen corpuscular medio) se calcula a partir de eritrocitos y del hematocrito, se da en femtolitros.
- **ADE** (anchura de distribución de eritrocitos) es un índice de la variación o dispersión del tamaño de los eritrocitos. Se calcula a partir de la desviación estándar y la población de eritrocitos y el VCM.

$$\text{ADE (\%)} = \frac{\text{K DE}}{\text{VCM}}$$

Donde:

K= constante del sistema

DE= desviación estándar calculada basada en la distribución de los eritrocitos

VCM= volumen corpuscular medio de los eritrocitos

Otros parámetros como la Hemoglobina corpuscular media (HCM) y la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) son proporcionados mediante los siguientes cálculos.

- **HCM** se calcula a partir del valor de la hemoglobina y del conteo de eritrocitos y describe la cantidad media de hemoglobina presente en un eritrocito:

$$\text{HCM (pg)} = \frac{\text{Hgb}}{\text{ERI}} * 10$$

- **CHCM** se calcula a partir de los valores de hemoglobina y hematocrito y describe la concentración media de hemoglobina presente en los eritrocitos:

$$\text{CHCM (g/dL)} = \frac{\text{Hgb}}{\text{Hct}} * 100$$

Resultados obtenidos por medio del histograma de plaquetas:

- **VMP** (Volumen plaquetario medio) se determina directamente a partir del análisis de la curva de distribución de las plaquetas. Se da en femtolitros.
- **Tct** (plaquetocrito) se calcula de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Tct (\%)} = \frac{\text{Plq (103 } \mu\text{l)} * \text{VMP (fL)}}{10000}$$

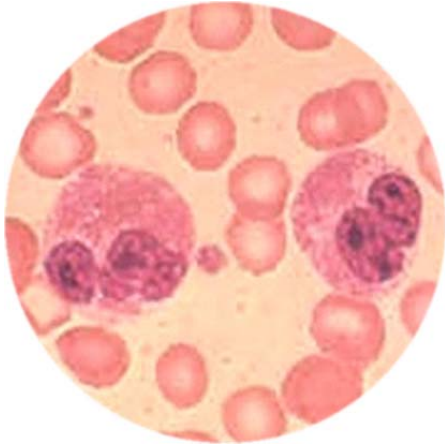
- **ADP** (anchura de distribución de las plaquetas) se calcula a partir del histograma de plaquetas.

### Conteo de BASOFILOS

$$\text{Conteo BASO} = \frac{\text{BASO \%}}{\text{LEU \%}} * \text{Conteo de LEU}$$

La cuantificación, lleva consigo un margen de error propio de las máquinas, por lo que siempre en casos dudosos es recomendable realizar un frotis sanguíneo y realizar el conteo. En este laboratorio utilizamos la tinción de Wright. El colorante de Wright tiene un comportamiento ácido base el cual permite teñir diferencialmente el núcleo y el citoplasma de las células sanguíneas. El frotis sanguíneo es de gran importancia en Hematología, ya que el diagnóstico de muchas enfermedades hematológicas puede realizarse al observar las características morfológicas de las células sanguíneas, por ejemplo anemias, leucemias y hemoparásitos.

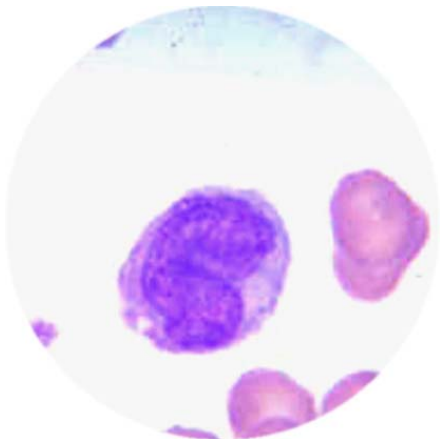




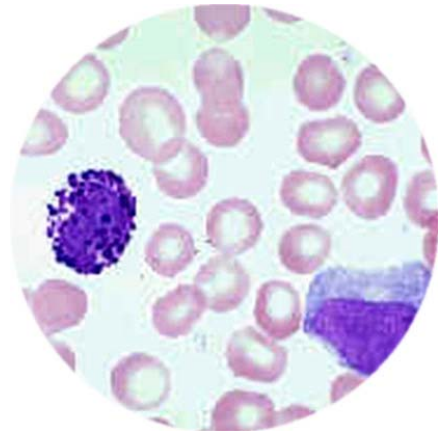
**Fig. 3 Eosinófilos**



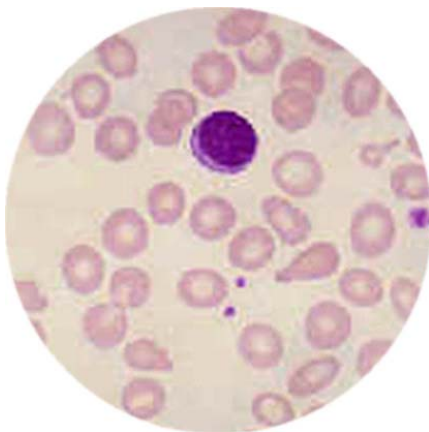
**Fig. 4 Neutrófilos**



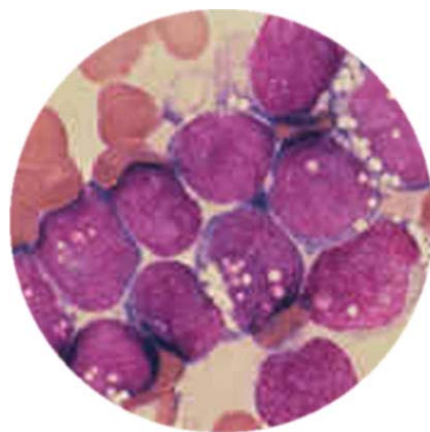
**Fig. 5 Monocitos**



**Fig. 6 Basófilo, Linfocito**



**Fig. 7 Anemia ferropénica**



**Fig. 8 Leucemia linfoide aguda**

Generalmente, el proveedor de los equipos, ofrece servicios de capacitación para la operación de los mismos, manuales, guías para resolución de problemas comunes y soporte técnico telefónico o personalizado.

El personal que ha tomado la capacitación es el encargado de mostrarle al personal de nuevo ingreso la forma de trabajo, por lo tanto el no conocer la operación de equipos no es la principal limitante de un Químico Farmacéutico Biólogo para trabajar en un laboratorio, lo principal, es la experiencia en el análisis y la capacidad para la resolución de problemas.



**Fig.9 Act-5 Diff, analizador hematológico.**

## BIOQUÍMICA CLÍNICA

En el área de Química Clínica aprendí a utilizar el equipo CX4 de Beckman Coulter, un equipo completamente automatizado en cuanto a las reacciones y curvas de calibración necesarias para cuantificar algún metabolito sanguíneo.

Este equipo determina perfiles como la química sanguínea, perfil de lípidos, perfil hormonal, entre otros. El análisis de las muestras en ciertas determinaciones, es muy rápido se puede cuantificar, por ejemplo, glucosa sanguínea aproximadamente en 15 minutos, únicamente programando datos de la muestra y colocando el suero problema en las copas de reacción.

Los analizadores automáticos para bioquímica clínica son aparatos diseñados para mecanizar los procedimientos manuales de determinación de sustancias químicas y enzimas. Los componentes fundamentales son:

1. Dispositivo de carga de especímenes (tubos de extracción después de centrifugados).
2. Sistema de identificación de los especímenes (lectores de códigos de barras para la identificación de los especímenes).
3. Dispositivo de toma y dispensación de los especímenes que traslada los especímenes desde su contenedor hasta la cubeta de reacción.
4. Sistema de dispensación de reactivos (pipetas)
5. Dispositivo de mezcla de especímenes y reactivos (en las cubetas de reacción)
6. Cubetas de reacción desechables o reutilizables.
7. Baño de incubación
8. Sistema de detección: suelen detectar medidas espectrofotométricas.
9. Amplificador y convertidor analógico/digital
10. Ordenador

La operación del equipo al igual que en las otras áreas me resultó sencilla, para el control de calidad es necesario vigilar que se efectúen correcta y diariamente:

- Procedimientos de limpieza del equipo, que incluyen limpieza de partes externas, limpieza de agujas de muestra y reactivo: internamente (con Wash concentrado y posteriormente con agua) y externamente (con etanol), purga y lavado de cubetas de reacción.
- Control estricto de: Temperatura de reactivos, sueros control y calibradores así como fechas de caducidad de los mismos.
- Calibración diaria y análisis de sueros control con su respectivo registro en bitácoras.

En este laboratorio los estudios de química clínica que regularmente se realizan son: cuantificación de glucosa, nitrógeno ureico (BUN, por sus siglas en inglés) y creatinina (lo que conocemos como química de tres), el perfil de lípidos y el perfil hepático, aunque el equipo puede realizar otros análisis como el perfil hormonal, enzimático y de electrolitos, el nivel médico que se maneja esta clínica, aún no lo demanda.

La importancia de cuantificar sustancias en el área de bioquímica clínica es detectar indicativos de alguna patología reflejada en valores alterados o fuera de los parámetros normales.

Aunque no es el papel del Químico, correlacionar los resultados de la química clínica con cada área para establecer un diagnóstico, es su obligación saber hacerlo con la finalidad de detectar errores sistemáticos como confusión de

resultados, tiras reactivas en mal estado, reactivos caducos, calibración del equipo fuera de tiempo, entre otros.



FIG.10. CX4 Equipo para química clínica

### Principios de determinación en bioquímica clínica.

- **Glucosa**

La enzima Hexoquinasa cataliza la fosforilación de la glucosa en la presencia de los iones del ATP y del magnesio. La glucosa-6-fosfato resultante entonces se oxida a la lactona 6-fosfoglucono con la reducción concomitante del dinucleotide adenina niconamida (NAD). La cantidad de NADH producida es proporcional a la glucosa presente en la muestra del suero y se cuantifica a 340nm.

Valores normales: 80 — 110 mg/dl en ayunas

- **Nitrógeno ureico (BUN)**

La determinación de urea en sangre se utiliza para evaluar la función renal, o para confirmar y/o evaluar la evolución de una enfermedad que afecte la función de los riñones. Ayuda a evaluar la importancia de una deshidratación.

En esta prueba, la ureasa convierte a la urea en amoniaco el cual reacciona con salicilato, nitroferriicianuro e hipoclorito para dar un color azul-verde. La absorbancia a 610nm es directamente proporcional a la concentración.

Valores normales: 8 - 25 mg/dL

- **Creatinina**

La determinación de niveles séricos de creatinina, producto de degradación de la creatina, se utiliza como índice de funcionalismo renal, dado que su eliminación se efectúa a través del riñón y casi exclusivamente por filtración. La creatinina reacciona con el picrato alcalino, según la reacción de Jaffé, para dar un cromógeno rojizo. La cantidad de cromógeno que se forma bajo condiciones controladas, es directamente proporcional a la concentración de creatinina en la muestra y se mide fotométricamente a 490-510 nm. La reacción de Jaffé es una reacción no específica para creatinina, pero las otras sustancias que reaccionan con el picrato alcalino, lo hacen durante los primeros 30 segundos de iniciada la reacción.

Valores normales: 8-14 mg/l

- **Colesterol**

El colesterol sérico total tiene una utilidad comprobada en el diagnóstico de hiperlipoproteinemia, arteroesclerosis, enfermedades hepáticas y tiroidales .El colesterol total y colesterol HDL., junto con una determinación de triglicérido provee una información valiosa para lpredicción de la enfermedad coronaria del corazón, y para el genotipo de lipoproteína de acuerdo a la clasificación de Fredickson.

El ensayo del colesterol involucra reacciones enzimáticas secuenciales. La enzima colesterol esterasa hidroliza los ésteres de colesterol a colesterol y ácidos grasos libres. El colesterol oxidasa entonces oxida al colesterol para formar 4-colestenona y peróxido de hidrógeno. La peroxidasa cataliza la oxidación con peróxido de hidrógeno de 4-aminofenazona con la subsecuente copulación de p-hidroxibenzensulfonato. El producto final es un colorante quinoneimina el cual absorbe a 520 nm. La intensidad de color a 520 nm es directamente proporcional a la concentración del suero del colesterol.

Valores normales: Colesterol 140-200 mg/dl, HDL 30-85 mg/dl, LDL 65-175 mg/dl

- **Triglicéridos**

Una lipasa hidroliza los triglicéridos dando glicerol más ácidos grasos libre. El glicerol formado es sustrato de una glicerol quinasa que en presencia de ATP lo fosforila a glicerol 3P. El glicerol 3P es oxidado a dihidroxiacetona por una glicerol fosfato oxidasa dando también peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno junto con los cromógenos p-clorofenol y 4-AP son sustrato de una peroxidasa para formar una quinona roja cuantificable a 505 nm. La quinona formada es proporcional a la concentración de triglicéridos presente en la muestra.

Valores normales: 10-190 mg/dl

- **Bilirrubinas**

La bilirrubina se convierte en azobilirrubina mediante el ácido sulfanílico diazotado midiéndose fotométricamente. De las dos fracciones presentes en suero, bilirrubin-glucurónido y bilirrubina libre ligada a la albúmina, sólo la primera reacciona en medio acuoso (bilirrubina directa) precisando la segunda la solubilización con dimetilsulfóxido (DMSO) para que reaccione (bilirrubina indirecta). En la determinación de la bilirrubina indirecta se determina también la directa, correspondiendo el resultado a la bilirrubina total. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de bilirrubina presente en la muestra ensayada. La lectura es a 555 nm.

Valores normales: Bilirrubina total: hasta 1.10 mg/dL, Bilirrubina Directa Hasta 0.25 mg/dL

## SEROLOGÍA

A esta área se le da el nombre de serología, por utilizar suero para llevar a cabo los análisis, pero a diferencia del área de química clínica en la que también se utiliza suero, en esta área se detectan específicamente antígenos o anticuerpos presentes en suero dependiendo del análisis.

Los estuches de diagnóstico facilitan no solo el análisis sino también su interpretación. Sin embargo, es de suma importancia conocer los fundamentos de reacción, para poder identificar posibles reacciones cruzadas con otros metabolitos como fármacos o alimentos que pudiesen dar falsos positivos o negativos, así como en todo análisis clínico, llevar un adecuado control de calidad.

En el área de serologías se realizan diversos análisis conocidos comúnmente por el personal del laboratorio clínico como:

- VIH (Virus de Inmunodeficiencia Humana)
- PIE (prueba inmunológica de embarazo)
- PCR (proteína C reactiva)
- Reacciones febriles
- Factor reumatoide
- Grupo sanguíneo y RH<sup>1</sup>

Al igual que en las otras áreas es necesario controlar factores como la temperatura, la forma de mezclado, el almacenamiento y el manejo de cada reactivo a utilizar, para evitar resultados erróneos. Se debe tener especial cuidado al manipular los antígenos (utilizar guantes y cubre bocas) que, aunque se supone están inactivados no dejan de ser material biológico potencialmente infeccioso.

---

<sup>1</sup> En el laboratorio no contamos con banco de sangre, por lo que se clasifica dentro del área de serología.



En este laboratorio como en cualquier unidad médica certificada existen manuales de procedimientos operativos que describen detalladamente, paso a paso, la manipulación de equipos y muestras, es decir, lo que se hace en cada área del laboratorio, sin embargo, no está de más basándonos evidentemente en dichos manuales, establecer un orden de trabajo propio, el cual disminuirá la posibilidad de errores y agilizará enormemente el trabajo.

Esta área hace uso de técnicas inmunoquímicas para el análisis, las cuales a su vez utilizan las reacciones inmunológicas antígeno-anticuerpo, que pueden detectarse por los efectos que producen. Este laboratorio trabaja con estuches diagnósticos que utilizan dos tipos de reacción: la inmunoprecipitación y la inmunoaglutinación.

El inmunodiagnóstico como también se le llama a esa área, implica un conjunto de técnicas, basadas en la reacción antígeno- anticuerpo, que se aplican en el estudio del proceso infeccioso. Su utilidad es detectar antígenos o anticuerpos en muestras biológicas (principalmente suero) para saber si un paciente está infectado (infección aguda), ha respondido inmunológicamente a una infección (infección pasada) o a una vacuna.

La reacción del antígeno (Ag) con el anticuerpo (Ac) para formar complejos Ag - Ac, se realiza en una zona pequeña en la que se complementan el determinante antigénico y la zona combinante del anticuerpo. Es una reacción físico química específica, reversible, que ocurre *in vivo* (en el ser humano) e *in vitro* (en el laboratorio).

Los factores que hacen posible esta unión son:

1. La complementariedad de las regiones que intervienen en la reacción. Hace que ambas regiones estén muy próximas.

2. Las fuerzas de atracción: iónicas por la carga diferente de los reactivos, hidrofóbicas, enlaces de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals. Estas fuerzas se potencian por la proximidad de las regiones que intervienen en la reacción.

Las reacciones clásicas (aglutinación, precipitación o fijación del complemento), se caracterizan por que cuando se encuentran el antígeno y su anticuerpo específico se produce la formación de complejos Ag.-Ac. que no son visibles y se evidencian por una nueva propiedad que manifiesta el complejo:

- Formación de agregados que se ven a simple vista, en la aglutinación.
- Producción de complejos Ag.-Ac. insolubles, también visibles, precipitación. Unión del complemento a los complejos Ag.-Ac. con la observación de la acción de aquel, en las reacciones de fijación del complemento.

Existen dos tipos de reacción de aglutinación:

- a) Reacción de aglutinación directa: Es aquella en la que el antígeno se encuentra sobre la superficie de corpúsculos naturales como bacterias y eritrocitos. Este tipo de prueba se utiliza para detectar anticuerpos en suero contra los antígenos de las membranas de las células y pueden realizarse en tubo o en placa. En las pruebas en placa, se mezcla una suspensión de las células, se hace oscilar la placa durante unos minutos y se observa la aparición de la aglutinación.

Las pruebas de aglutinación directa se utilizan para diagnosticar infecciones bacterianas. Se detectan anticuerpos frente a *Brucella*, *Salmonella* (fiebre tifoidea) y *Proteus*. También se emplean en los bancos de sangre para determinar los grupos sanguíneos.

b) Reacción de aglutinación indirecta: utiliza células tratadas o partículas inertes recubiertas de antígeno, que actúan como portadores pasivos, como los eritrocitos humanos y partículas inertes de látex. Los antígenos se adsorben o acoplan de forma covalente a la superficie. Estas pruebas se realizan generalmente en placa y se utilizan para determinar el factor reumatoide y las pruebas reagínicas de serología luética para diagnosticar la sífilis.

Las pruebas rápidas que se utilizan en el laboratorio de la CLINAVSUR las describo a continuación:

a) Reacciones febriles (LICON)

La infección causada por microorganismos de especies como *Salmonella Typhi* (causante de la fiebre tifoidea), *S. enteritis*, así como las paratifoideas causadas por *S. paratyphi* A y B; y el Tifo causado por el género *Rickettsia*, producen entre otros síntomas una marcada elevación de la temperatura. La infección por estos microorganismos induce una respuesta inmune de tipo humoral con la producción de anticuerpos que pueden ser detectados con el antígeno específico.

Debido a la dificultad existente para el aislamiento de las *Rickettsia sp* el antígeno empleado para la determinación de anticuerpos es el *Proteus* OX-19 el cual presenta una reacción cruzada con las bacterias del género *Rickettsia*.

La reacción de Huddleson es un método serológico que detecta anticuerpos contra *B. abortus*, *B. melitensis* y *B. suis*, agentes causales de la brucelosis también conocida como fiebre de Malta o fiebre ondulante por el cuadro febril característico que se presenta.

La prueba se basa en una reacción inmunológica entre los anticuerpos séricos y el antígeno correspondiente produciendo una reacción de aglutinación macroscópica.

El grado de aglutinación se registra como sigue:

4+	Aglutinación del 100 % de los microorganismos
3+	Aglutinación del 75 % de los microorganismos
2+	Aglutinación del 50% de los microorganismos
1+	Aglutinación del 25 % de los microorganismos
-	Aglutinación del 0% de los microorganismos

El título del suero será la inversa de la dilución más alta en donde se observa una aglutinación del 50% de los microorganismos (2+).

En este laboratorio el análisis se realiza en placa y las diluciones obtenidas al agregar el volumen de suero correspondiente y una gota de la suspensión del antígeno (30-40µl) son las siguientes:

Volumen de suero	Título
0.08 ml	1:20
0.04 ml	1:40
0.02 ml	1;80
0.01 ml	1:160
0.005 ml	1:320

Para emitir un resultado confiable es necesario realizar simultáneamente la reacción con el suero control positivo que es suero de conejo el cual ha sido inmunizado contra todos los antígenos febriles en una suspensión y que por lo tanto producida aglutinación, y el suero control negativo que es suero de conejo

el cual no ha sido inmunizado contra ningún antígeno, por lo que no mostrará aglutinación.

Entre las precauciones que deben tomarse con respecto a la muestra y el reactivo para evitar datos erróneos están: utilizar sueros claros y libres de contaminación bacteriana, no calentar el suero, agitar bien el antígeno asegurando una suspensión uniforme, mantener al antígeno en refrigeración (2° C a 8° C) cuando no se utilice y no congelar.

Algunos sueros normales pueden dar un título de 1:20 a 1:40 y hasta 1:80 pero esto puede ser debido a vacunaciones o alguna infección anterior. No siempre se presenta producción de aglutininas en infecciones bacterianas.

Se pueden producir reacciones cruzadas de aglutininas debido a vacunaciones para ciertas enfermedades. La vacuna tífica puede producir aglutininas contra antígenos *Proteus*.

En la reacción de Huddleson títulos de 1:80 pueden considerarse ya de significado clínico. El diagnóstico exacto de la enfermedad depende del acercamiento entre el laboratorio clínico y el médico. Ya que la elevación del título en la muestra de suero con sintomatología reciente y la muestra de suero en fase convaleciente indicaran la exactitud del diagnóstico.

b) Factor Reumatoide de laboratorios LICON.

El Factor reumatoide pertenece a un grupo de anticuerpos dirigidos contra la estructura terciaria modificada de la fracción Fc de la inmunoglobulina IgG. Su presencia se relaciona con enfermedades tales como: Artritis Reumatoide y Lupus Eritematoso Generalizado entre otras.

Como resultado del descubrimiento del Factor Reumatoide, se han desarrollado varias técnicas para su identificación y cuantificación. Las técnicas generalmente más útiles han sido los procedimientos de aglutinación en los cuales

se emplean partículas de látex de poliestireno cubiertas con una capa de gamma globulina humana adsorbida. El factor reumatoide presente en la muestra reacciona con el material cubierto originando una aglutinación visible de las partículas de látex inertes. La prueba que utilicé en una prueba rápida en placa que aglutina inmunoglobulinas anormales de suero conocidas como "Factor Reumatoide" en presencia de partículas de látex sensibilizadas con gamma globulina humana.

La interpretación de acuerdo al fundamento de la reacción, será la presencia de agregados macroscópicos (aglutinación comparable al control positivo) y la ausencia de agregados macroscópicos (sin aglutinación, comparable al control negativo).

En este laboratorio se realiza el método cualitativo (en placa) y la dilución utilizada es de 1:20 la cual es positiva hasta con títulos de 1:40 hasta 1:320.

En cuanto a las limitaciones del método, se recomienda para evitar interferencias no utilizar sueros turbios, hemolizados o contaminados, y realizar las lecturas exactamente al tiempo indicado.

c) RPR para SIFILIS de laboratorios LICON.

La prueba de RPR es una prueba de floculación no treponémica macroscópica para detectar y cuantificar reaginas, un anticuerpo antilípido encontrado en el suero o plasma de personas con sífilis y ocasionalmente en

personas con infecciones agudas o crónicas en otras condiciones aparte de la sífilis.

El antígeno utilizado es una suspensión de cardiolipina y es una modificación del antígeno VDRL el cual contiene micropartículas de carbón activado para realzar la diferencia entre un resultado positivo y negativo.

Si una muestra contiene reagentes, ocurre la floculación con las partículas de carbón contenidas en la suspensión del antígeno, la cual aparece como un acúmulo negro. Las muestras no reactivas se observan con un ligero color gris.

La última dilución que contenga agregados macroscópicos indica el título de la muestra. Por ejemplo:

Tubo No.	Dilución del suero	Resultado
1	1:2	Positivo
2	1:4	Positivo
3	1:8	Positivo
4	1:16	Negativo

En este caso el título del suero problema será de 1:8.

Es importante de igual manera llevar a cabo las reacciones con los respectivos control positivo y negativo, además se debe de cuidar la estabilidad del reactivo refrigerándolo a la temperatura indicada cuando no se utilice y protegerlo de la luz.

Por otro lado muestras hemolizadas o severamente lipémicas deben descartarse para efectuar el análisis, así mismo falsos positivos pueden ser causados por enfermedades tales como lepra, lupus eritematoso, mononucleosis infecciosa, malaria, neumonía viral, en embarazo también se han reportado, en

enfermedades autoinmunes y adicciones narcóticas, por lo que es de suma importancia tener conocimiento de la presencia de alguno de las variables anteriores para evitar resultados erróneos.

d) Proteína “C” reactiva.

Tillet y Francis concluyeron en 1930 que la reacción que se origina en el suero de pacientes que sufren de enfermedades inflamatorias precipita con un extracto de pneumococo no proteico llamado polisacárido C. La proteína que causa este tipo de reacción fue llamada Proteína “C” reactiva.

Como un fenómeno no específico el incremento en la concentración de la Proteína “C” Reactiva se puede presentar en cualquier proceso inflamatorio agudo (ya sea infeccioso o no infeccioso). La concentración de Proteína “C” Reactiva generalmente se encuentra por debajo de 6 mg/l en el suero de adultos sanos y en enfermedades inflamatorias estos valores frecuentemente se incrementan en un lapso de 4 a 8 horas después de presentarse un evento agudo alcanzando niveles aproximadamente de 20 a 500 mg/L.

Varios métodos de inmunoprecipitación se han desarrollado para la detección de Proteína “C” Reactiva. El principio del procedimiento utilizado involucra una reacción inmunológica entre la Proteína “C” Reactiva (como antígeno) y el anticuerpo correspondiente adsorbido a las partículas de látex (látex sensibilizado con Anti-Proteína “C” Reactiva), que mostrará una aglutinación visible en reacciones positivas (y en el control positivo) y la ausencia de aglutinación en reacciones negativas (y en el control negativo).



La prueba cualitativa que es la que realizamos en este laboratorio debido a la dilución que utiliza (1:20) detecta títulos de 1:20 a 1:80.

e) Grupo sanguíneo

El sistema ABO fue el primer sistema sanguíneo humano descubierto por Landsteiner en 1900, y continua siendo el más importante en la practica

transfusional. El sistema ABO se define por la presencia o ausencia de los antígenos A y B en los hematíes y por la presencia de anticuerpos en el suero, correspondientes al antígeno o antígenos ausentes en los glóbulos rojos.

La determinación del grupo sérico inverso e basa en la presencia o ausencia de isoaglutininas anti A y/o anti B en el suero del paciente, utilizando hematíes de grupo conocido: A y B. Las isoaglutininas anti A y anti B son anticuerpos naturales producidos por individuos sanos que carecen de los respectivos antígenos A y B.

El principio del método se basa en la técnica en gel de Lapierre para la detección de las reacciones de aglutinación de los hematíes. La aglutinación se produce al entrar en contacto los antígenos eritrocitarios con los anticuerpos correspondientes, presentes en el reactivo o en la muestra de suero o plasma.

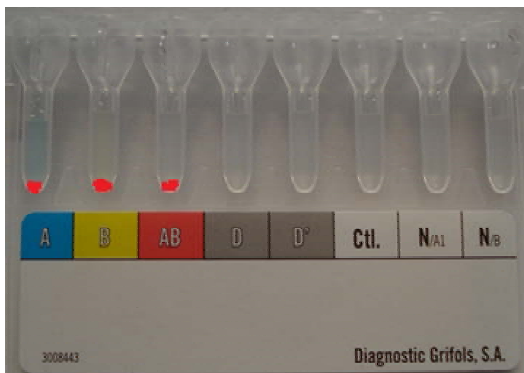


Fig. 11 Grupo sanguíneo O

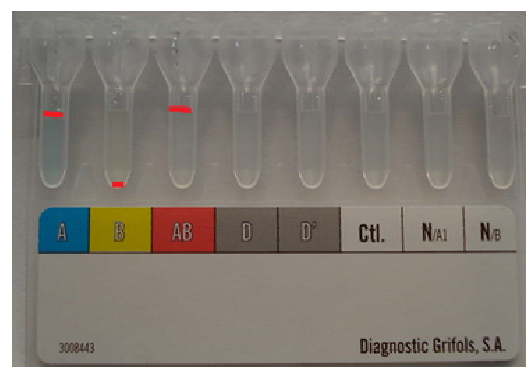
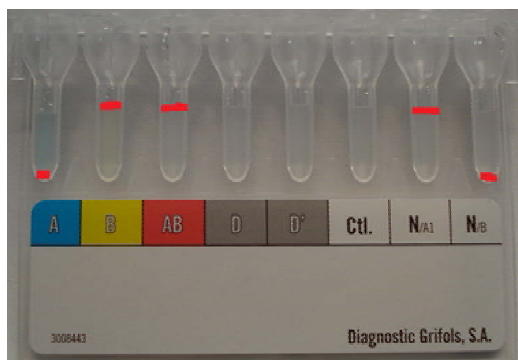


Fig. 12 Grupo sanguíneo A



**Fig. 13 Grupo sanguíneo B**



**Fig.14 Grupo sanguíneo AB**

f) Prueba Inmunológica de Embarazo de STANBIO.

La Gonadotropina Corionica Humana (hCG) es secretada normalmente por la placenta. En el embarazo, la secreción aumenta tiempo después. La hCG se excreta por orina y se alcanzan niveles relativamente altos, lo que permite la utilización de estas técnicas rápidas y simples para la determinación del embarazo. Durante el tiempo de atraso del último periodo menstrual, los niveles de hCG en suero son de 100 mIU/mL con niveles pico de 100 000 a 200 000 mIU/mL observados al final del primer trimestre.

La prueba utilizada para la determinación del embarazo es la QuPID Plus, es un inmunoensayo cualitativo que puede realizarse tanto en orina como en suero. El ensayo utiliza una combinación de anticuerpos monoclonales y policlonales, reactivos que detectan selectivamente niveles bajos de hCG en la muestra. La prueba se lleva a cabo mediante la adición de la muestra en la zona de prueba, seguido de la formación de líneas coloridas en las zonas de la muestra y de control.

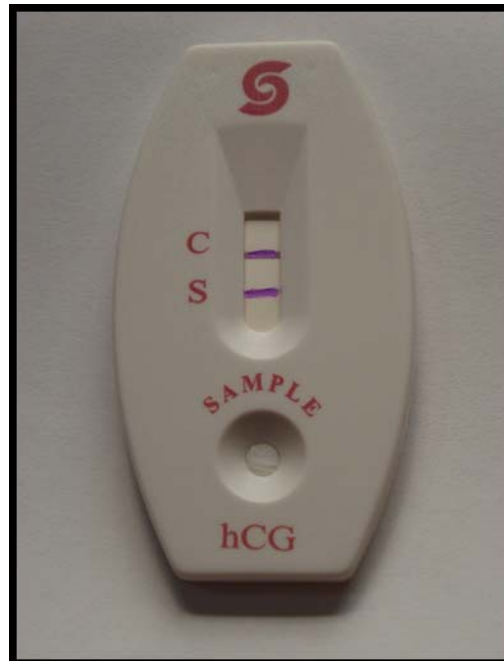
La muestra migra por acción capilar a lo largo de la membrana y reacciona con los conjugados coloridos. Una muestra positiva reacciona con el anticuerpo-hCG-colorido conjugado específico para la fracción  $\beta$  de la hCG y forma una línea colorida en la zona de muestra (s) en la porción de la membrana. La ausencia de esta línea colorida sugiere un resultado negativo. Como procedimiento de control, siempre aparecerá una línea colorida en la zona de control sin importar la presencia de hCG en la muestra.

Para esta prueba, es importante considerar que pueden presentarse muestras de orina con altas concentraciones de hCG en pacientes que sufren epitelomas corionicos o molas hidratadas, por lo que pueden ocurrir falsos positivos. Por otro lado, la excreción de hCG disminuye generalmente en

embarazos extrauterinos, embarazos totémicos o con amenazas de abortos. Estas circunstancias pueden dar resultados falsos negativos.



**Fig.15 Resultado negativo**



**Fig.16 Resultado positivo**

g) VIH (Uni-Gold HIV, LICON)

El virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV) se ha reconocido como el agente etiológico del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). El VIH se ha encontrado en:

- a) Pacientes con SIDA y desordenes relacionados.

- b) Miembros asintomáticos de grupos de alto riesgo de SIDA.
- c) Pacientes sin otros factores de alto riesgo quienes han adquirido SIDA después de recibir transfusiones sanguíneas.

La mayoría de los pacientes con SIDA o Complejos relacionados con el SIDA tienen anticuerpos para las proteínas estructurales del VIH. Una proporción de miembros de grupos de alto riesgo clínicamente saludables como los homosexuales, hemofílicos o adictos a las drogas son seropositivos. La infección por VIH se diagnostica mediante la detección de anticuerpos específicos para el virus. Actualmente se conocen dos tipos de virus HIV-1 y HIV-2 con 40-60% de aminoácidos homólogos entre las dos cepas.

Las proteínas recombinantes representando las regiones de las proteínas de la cubierta del HIV-1 y HIV-2, la glicoproteína gp41, gp120 (HIV-1) y la glicoproteína gp32 (HIV-2) respectivamente son inmovilizadas en la región de prueba de la tira de nitrocelulosa. Estas proteínas también se unen al oro coloidal y se impregnan por debajo de la región de prueba del cartucho. Una banda delgada de la membrana de nitrocelulosa también se sensibiliza como una región de control.

Durante la prueba, los anticuerpos IgG, específicos para las proteínas recombinantes del HIV-1 y HIV-2, reaccionarán con los antígenos unidos a las partículas de oro coloidal. El complejo partículas de oro coloidal-anticuerpos se mueve cromatográficamente a través de la membrana a las regiones de prueba y control del cartucho de prueba.

Una reacción positiva se visualiza por una banda de color rosa/púrpura en la región de prueba del cartucho. Una reacción negativa ocurre en la ausencia de

anticuerpos inmunoglobulina humanos para HIV en la muestra analizada. Consecuentemente se desarrolla una banda no detectable visualmente en la región de prueba del cartucho.

Esta prueba la clasificamos como de pre diagnóstico, pues por sí misma no proporciona la confiabilidad ya que el SIDA es un síndrome clínico y su diagnóstico es establecido clínicamente. Por otro lado, en el laboratorio de la CLINAVSUR el reporte de resultados de esta prueba se indica como reactivo o no reactivo. Una muestra reactiva se envía a un análisis más preciso como ELISA.

## UROLOGÍA

En esta área me inicié como ayudante, haciendo únicamente los exámenes físico y químico, mientras que el responsable del área realizaba el microscópico y, simultáneamente me mostraba lo que veía: células epiteliales, eritrocitos, leucocitos, cristales, bacterias, cilindros y levaduras entre otros. Posteriormente ascendí a encargado parcial del área, realizaba los tres exámenes pero el microscopio era verificado por alguno de los Químicos más experimentados. Poco después, llegue a ser responsable del área.

Un examen general de orina, es un estudio que proporciona información valiosa para el diagnóstico de enfermedades de vías urinarias y otros padecimientos, como los hepáticos, renales y aquellos por alteraciones metabólicas, además su sencillez, rapidez y relativo bajo costo es de los estudios de rutina más utilizados.

El análisis de orina comprende el examen de:

1. Las características físicas: color, aspecto y densidad.
2. Las características químicas: pH, proteínas, glucosa, cetonas, hemoglobina, bilirrubina. urobilinógeno y nitritos.
3. Características microscópicas del sedimento: determina la presencia de células. Cristales, cilindros y estructuras diversas como bacterias y filamento mucoide.

## RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

La muestra enviada para un análisis completo, sea obtenida en cualquier momento del día o sea la primera micción de la mañana, debe tener por lo menos, un volumen de 15 mililitros.



**Fig.17 Muestra de orina**

Una muestra al azar es por lo general suficiente para realizar la mayoría de las pruebas selectivas; pero debido a que la primera micción matinal es más concentrada, resulta por lo general la muestra de elección.

Para la recolección de la muestra es importante utilizar un envase limpio y seco. Antes de la recolección deben limpiarse los genitales con una solución antiséptica suave. Se deja escapar la porción inicial del chorro de orina y se recolecta la porción media.

Es preferible examinar la muestra estando aún fresca, si esto no es posible, debe ser refrigerada hasta el momento del examen, ya que las muestras dejadas a temperatura ambiente se descomponen con rapidez, principalmente por la presencia de bacterias. Las bacterias desdobladoras de urea producen amoníaco, que se combina con iones hidrógeno produciendo amonio; con el que

se incrementa el pH de la orina. El aumento del pH da lugar a la descomposición de cualquier cilindro que pueda estar presente, ya que estas estructuras tienden a disolverse en orinas alcalinas. Por otro lado, las bacterias pueden utilizar la glucosa dando falsos negativos para glucosuria. Aun en el caso de que no exista contaminación bacteriana, componentes de la orina como células sanguíneas y cilindros, tienden a deteriorarse. Sin embargo, si el pH de la muestra es bajo y la densidad es elevada (mayor a 1.015) el deterioro tarda más en producirse.

En caso de que la muestra de orina deba ser conservada durante un periodo prolongado, existen conservadores químicos que pueden adicionarse (Ver Tabla 1).

**TABLA 1.** Conservadores químicos para muestras de orina.

Conservador	Efecto
Tolueno 2 ml / 100ml orina	Efectivo para los constituyentes químicos pero no contra bacterias ya presentes en la orina.
Formalina 1 gota / 30 ml de orina	Buen conservador para el sedimento urinario, pero en concentraciones elevadas precipita proteínas, además da resultados falsos positivos para sustancias reductoras.
Timol 1 cristal pequeño	Interfiere la prueba de precipitación con ácido para proteínas.
Tabletas conservadoras 1 tableta / 30 ml orina	A esta concentración el formaldehido no interfiere la prueba de sustancias reductoras, pero a concentraciones más elevadas da lugar a resultados falsos positivos. Incrementan la densidad en 0.005/ 1 tableta / 30 ml.
Cloroformo	Inhibe el desarrollo bacteriano pero es poco recomendable porque modifica las características del sedimento celular.

## ANALISIS DE LAS CARACTERISTICAS FISICAS



a) Color: La orina normal puede presentar una amplia gama de colores, lo cual está determinado por su concentración. El color varía de amarillo pálido a ámbar oscuro, según la concentración de los pigmentos urocromicos y, en menor medida, de la urobilina y de la uroeritrina. Existen factores y constituyentes que alteran el color normal de la orina, incluyendo medicamentos y dieta, así como diversos productos químicos presentes en situaciones patológicas. El pH influye en la coloración que muchas sustancias químicas producen.

**TABLA 2.** Sustancias que pueden colorear la orina.

Color	Patológicos	No patológicos
Blanco	Quilo, Pus (muchos leucocitos)	Fosfatos
Amarillo a anaranjado	Bilirrubina, Urobilina	Acriflavina, Azo-Gantrisin, Colorantes de alimentos, Nitrofurantoína, Orina concentrada, Pyridium, Quinacrina, Riboflavina, Ruibarbo, Sena, Serotonina, Sulfasalazina, Zanahorias
Rosado a rojo	Eritrocitos, Hemoglobina, Uroeritrina, Mioglobina, Porfobilina, Poririnas	Aminopirina, Antipirina, Bromosulfaleína, Cáscara, Colorantes de alimentos, Fenacetina, Fenoltaleína, Fenolsulfonftaleína, Fenotiazina, Metildopa, Pyridium, Remolacha
Rojo castaño a púrpura	Porfobilina, Porfobilinógeno, Uroporfirina	
Castaño a negro	Bilirrubina, Melanina, Metahemoglobina, Mioglobina, Porfirinas	Compuestos de hierro, Cloroquina, Hidroquinona, Levodopa, Metildopa, Metronidazol, Nitrofurantoina, Quinina, Resorcinol
Azul a verde	Biliverdina, Infección por <i>Pseudomonas</i>	Acriflavina, Amitriptilina, Azul de Evans, Azul de metileno, Azur A, Complejo B, Creosota, Fenil salicilato, Timol, Tolonio, Triamtireno

Si bien, algunos laboratorios ya no informan más de rutina sobre el color de la orina, no deben subestimarse las pistas dadas por las características físicas.

b) Aspecto: La orina normal habitualmente es clara pero puede tornarse turbia por precipitación de fosfato amorfo en orinas alcalinas, o de urato amorfo en orinas ácidas. La orina puede ser turbia por presencia de leucocitos, eritrocitos, células epiteliales y bacterias. El moco da un aspecto brumoso, la grasa y el quilo un aspecto lechoso. Lo anterior, puede confirmarse mediante el examen microscópico del sedimento.

c) Peso específico: Es la relación entre el peso de un volumen de orina y el peso del mismo volumen de agua destilada medidos a una temperatura constante. Constituye un índice de la concentración del material disuelto en la orina; sin embargo, no sólo depende del número de partículas sino también del peso de éstas en la solución. Este parámetro se utiliza para medir el poder concentrador y diluyente del riñón en su esfuerzo por mantener la homeostasis del organismo. La capacidad concentradora del riñón es una de las primeras funciones que se pierden como consecuencia del daño tubular.

El intervalo normal para una muestra tomada al azar es de 1.003-1.035. El valor varía de acuerdo al estado de hidratación del organismo. En el cuadro siguiente se muestra los factores que incrementan o disminuyen el peso específico de la orina. Este parámetro es útil para establecer la diferencia entre una diabetes insípida y una diabetes *mellitus*. Ambas enfermedades producen un volumen urinario alto, pero en la diabetes insípida el peso específico es muy bajo porque en este caso existe una deficiencia de ADH. En la diabetes *mellitus* existe un déficit de insulina y por lo tanto un exceso de glucosa que supera el umbral renal y es excretada en la orina. Las moléculas de glucosa son de elevado peso y, en consecuencia, el peso específico de la orina puede elevarse.

**Tabla 3.** Factores que aumentan o disminuyen el peso específico de la orina.

<b>Aumento del peso específico</b>	<b>Disminución del peso específico</b>
Deshidratación	Colagenopatías
Proteinuria	Pielonefritis
Glucosuria	Desnutrición proteica
Eclampsia	Polidipsia
Nefrosis lipoidea	Diabetes insípida

### ANÁLISIS DE CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS

A partir de la introducción de las tiras reactivas simples y múltiples, el examen químico de la orina se ha convertido en un procedimiento sensible y rápido. Actualmente es posible analizar hasta nueve pruebas diferentes en menos de 60 segundos.

El urianálisis químico se completa a través del desarrollo de una diferencia de color en cada bloque de la tira reactiva, generada por la reacción química entre el reactivo y la orina.

En este laboratorio se utiliza la Uri-Quick CLINI-10SG tira reactiva para orina de Stanbio. Esta tira contiene áreas reactivas de fase sólida unidas a una tira plástica en forma de reactivo seco. Contiene pruebas para la detección cualitativa y semicuantitativa de glucosa, cetonas, gravedad específica, sangre, pH, proteínas, urobilinógeno y leucocitos. La interpretación de cada parámetro se realiza ya sea de manera convencional comparando visualmente el cambio de color de cada bloque de la tira con la carta de colores o, mediante el uso del equipo UriTrak®100.

El equipo de lectura de tiras reactivas para análisis de orina UriTrak®100, hace uso del principio de reflectancia de luz para cuantificar cada parámetro de la tira reactiva.



**Fig. 18 Equipo para urianálisis.**

La reflectancia es la proporción de luz reflejada por una superficie y se determina comparando los lúmenes que inciden en ella (iluminancia) con los que refleja (luminancia). Este parámetro es sólo el porcentaje de luz reflejada, no se mide en ninguna unidad. Los espectrofotómetros de reflectancia miden la cantidad proporcional de luz reflejada por una superficie como una función de las longitudes de onda para producir un espectro de reflectancia.

El funcionamiento de un espectrofotómetro consiste básicamente en iluminar la muestra con luz blanca y calcular la cantidad de luz que refleja dicha muestra en una serie de intervalos de longitudes de onda. Lo más usual es que los datos se recojan en 31 intervalos de longitudes de onda (los cortes van de 400 nm, 410 nm, 420 nm...700 nm). Esto se consigue haciendo pasar la luz a través de un dispositivo monocromático que fracciona la luz en distintos intervalos de longitudes de onda. El instrumento se calibra con una muestra blanca cuya reflectancia en cada segmento de longitudes de onda se conoce en comparación con una superficie de reflexión difusa perfecta.

El uriTrak ®100 hace un escaneo de luz monocromática, de cada bloque reactivo de la tira de prueba para determinar la composición bioquímica de la orina mediante un rango de reflectancias diferentes de luz monocromática que varían con la diferencia e intensidad del color. El instrumento aplica dos escaneos de luz monocromática a la tira de prueba transformando las señales ópticas en señales eléctricas con las que posteriormente calcula el rango de reflectancia del color de prueba. La formulación del rango de reflectancia calculado es como se menciona a continuación:

$$R (\%) = \frac{T_m * Cr}{Tr * Cm} * 100\%$$

Donde:

R	Rango de reflectancia
Tr	Intensidad de reflectancia de la luz de referencia de la tira de prueba
Cr	Intensidad de reflectancia de la luz de referencia del bloque blanco
Tm	Intensidad de reflectancia del bloque de prueba de la tira de prueba
Cm	Intensidad de reflectancia del bloque blanco de la luz de prueba

Aun con el amplio uso de estos procedimientos de análisis, sigue siendo necesario comprender los principios básicos de las pruebas, así como la técnica correcta que debe usarse.

El procedimiento para usar las tiras reactivas es el siguiente:

- ✓ Sumergir completamente las áreas de prueba de la tira en orina fresca, bien mezclada y sin centrifugar y retirar la tira en forma inmediata.
- ✓ Eliminar el exceso de orina de tira.
- ✓ Comparar las áreas reactivas con la carta correspondiente, en el momento apropiado.
- ✓ Hacer la lectura con buena iluminación para lograr una comparación exacta del color (si se hace de manera convencional).

A continuación describo los principios de reacción de las tiras reactivas:

1. Glucosa: Es determinada mediante una reacción enzimática secuencial. Primero la glucosa oxidasa cataliza la formación de ácido glucónico y peróxido de hidrógeno a partir de la oxidación de la glucosa. Una segunda enzima, la peroxidasa cataliza la reacción del peróxido de hidrógeno con el cromógeno ioduro de potasio para oxidar al cromógeno y que cambie el color verde a café verdoso y de café a café oscuro.  
Normalmente no se detecta glucosa en orina, aunque una mínima cantidad de glucosa se excreta por el riñón. Aproximadamente 100 mg de glucosa/dL de orina es detectada en la tira reactiva. Concentraciones de 100 mg/dL se pueden considerar como anormales si son consistentes.
2. Bilirrubina: Tras el acoplamiento de la bilirrubina con la sal de diazonio 2,4-Diclorobenceno en un medio fuertemente ácido, el color cambia de beige/crema a café-rojizo. No se detectan niveles de bilirrubinas en orinas de individuos sanos, ni por los métodos más sensibles. las bilirrubinas

elevadas en orina siempre indican enfermedad, y es el primer signo de enfermedades hepáticas y/o obstrucción biliar. Los signos “+” Bajo (0.5 mg/dL), “++” Moderado (1.0 mg/dL) y “+++” Alto (3.0 mg/dL) indican la severidad cualitativa del daño hepático y/o obstrucción biliar. Cualquier traza de bilirrubina en la prueba es de importancia suficiente para requerir de la investigación y el estudio futuro.

3. **Cetonas:** La reacción del ácido acetoacético en orina con nitroprusiato, al ser positiva produce el cambio de coloración de beige/crema a morado si la reacción es positiva. Los cuerpos cetónicos no se deben detectar en muestras de orina normales con esta prueba. La sensibilidad es de 5 mg de ácido acético por 100 mL de orina. Niveles detectables de cetonas pueden ocurrir con frecuencia en casos de vómito, diarrea, disturbios digestivos, embarazo, o ejercicio físico severo.
4. **Gravedad específica:** La prueba se basa en el cambio de pKa de ciertos polielectrolitos pre tratados en relación a su concentración iónica. En presencia de un indicador, los colores cambian de azul profundo en orinas con concentración iónica baja a verde y verde-amarillo en orinas con concentración iónica elevada. La gravedad específica en la orina de adultos normales puede ir de 1.003 a 1.040. la orina de 24 horas de adultos normales, con dietas normales y fluidos internos normales tendrán una gravedad específica entre 1.016 y 1.022. esta prueba permite la determinación de gravedad específica de orina entre 1.000 y 1.030.
5. **Sangre:** La pseudoperoxidasa de la hemoglobina cataliza la reacción del 3,3',5'-tetrametilbencidina y un peróxido orgánico regulado, 2,5-dimetilhexano-2, dihidropéroxido. El color resultante cambia de anaranjado a verde y por último a azul oscuro. La hemólisis es un proceso natural de reciclaje de eritrocitos viejos o dañados. Pero cuando la hemoglobina

aparece en la orina indica la existencia de alguna enfermedad renal o algún tipo de desorden del tracto urinario. El límite de detección de esta prueba es de aproximadamente 5 a 10 eritrocitos por  $\mu\text{l}$  de orina. Con frecuencia se encuentra sangre en orina de mujeres menstruando, esta prueba es altamente sensible a la hemoglobina y se complementa con el examen microscópico.

6. pH: Este reactivo consta de dos indicadores (rojo de metilo y azul de bromotimol) los cuales dan un amplio rango de colores que abarca por completo el rango urinario de pH. El cambio de color va de anaranjado a verde amarillento y de verde a azul. La orina normal es ligeramente ácida con un pH de 6 y los valores de pH en orina generalmente van de 5 a 8. El pH en la orina es un indicador importante de factores metabólicos, gastrointestinales, respiratorios y renales.
7. Proteínas: El cambio de color del indicador azul de tetrabromofenol, en presencia de proteínas muestra un cambio de color de amarillo a verde y después a azul verdoso. Muestras de orina normales contienen niveles mínimos de proteína (0-4 mg/dL); por lo tanto, únicamente niveles persistentes de proteínas en la orina indican enfermedades renales o del tracto urinario. Los resultados persistentes de trazas o niveles mayores de proteínas indican proteinuria significativa, por lo que se requiere de futuras pruebas clínicas para evaluar el significado de los resultados. Las concentraciones dadas: "+" (30 mg/dL); "++" (100 mg/dL); "+++" (300 mg/dL); "++++" (>2000 mg/dL) correlacionan bien con las concentraciones de albúmina en la orina. La proteinuria patológica generalmente da valores arriba de 30 mg/dL y es persistente.
8. Urobilinógeno: La reacción de diazotización de la sal de diazonio 4-Metoxibenceno y urobilinógeno urinario en un medio fuertemente ácido,



produce un cambio de color que va de amarillo a café-naranja, de acuerdo a la concentración. En esta prueba el rango normal es de 0.2 a 1.0 mg/dL, si el resultado excede la concentración de 2.0 mg/dL, el paciente debe ser evaluado posteriormente.

9. Nitritos: La reacción del ácido p-arsenílico y nitritos en la orina forma un compuesto de diazonio. El compuesto de diazonio en turno se une con el N-1(naftil) etilendiamina en un medio ácido. El color resultante es rosa. Cualquier grado de rosa después de 30 segundos indica bacteriuria clínicamente significativa, pues se debe generalmente a infecciones en riñones, uréter, vejiga o uretra. Cabe mencionar que el desarrollo del color no es proporcional al número de bacterias presentes, además esta prueba solo detecta bacterias que reducen los nitratos, por lo que una reacción negativa no prueba por si misma que no hay una bacteriuria significativa.
  
10. Leucocitos: Los leucocitos granulocitos contienen esterasas que catalizan la hidrólisis de un éster de aminoácido derivado del tiazol para liberar el derivado hidroxitiazol. Este tiazol reacciona con la sal de diazonio para producir un color morado. Muestras de orina normal generalmente dan resultados negativos; los resultados positivos son clínicamente significativas. Resultados positivos y trazas repetidamente indican la necesidad de una prueba posterior del paciente y la muestra de orina, de acuerdo con los procedimientos médicos aceptados para piuria. Ocasionalmente se pueden encontrar resultados positivos en mujeres debido a contaminación de la muestra por flujo vaginal.

La reacción de las tiras reactivas se debe confirmar probando muestras positivas y negativas o con controles de analitos múltiples que contengan cantidades normales y anormales de cada uno de los analitos a ser probados.

## ANÁLISIS DE CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS

El examen microscópico se realiza en una muestra centrifugada, se elimina el sobrenadante dejando un mililitro aproximadamente para resuspender el sedimento, se coloca una gota de éste en un portaobjeto y se examina inmediatamente. Pudiendo encontrar lo siguiente:

a) Células: Se encuentran eritrocitos, leucocitos y células epiteliales provenientes de cualquier punto del tracto urinario, desde los túbulos hasta la uretra, o como contaminantes procedentes de la vagina o vulva.

b) Cristales: Por lo general no se encuentran cristales en la orina recién emitida, pero aparecen dejándola reposar durante un tiempo. Cuando la orina esta sobresaturada con un compuesto cristalino particular, o cuando las propiedades de solubilidad se encuentran alteradas, el resultado es la formación de cristales. En algunos casos esta precipitación se produce en riñón o en el tracto urinario, y puede dar lugar a la formación de cálculos urinarios.

Muchos de los cristales que se encuentran en la orina carecen de significación clínica, excepto en casos de trastornos metabólicos, de formación de cálculos y aquellos en que sea necesario regular la medicación. Entre los cristales de mayor importancia se encuentran: cistina, tirosina, leucina, colesterol y sulfamidas. Los cristales pueden identificarse por su aspecto, y si fuera necesario, por sus características de solubilidad. Debido a que la formación de cristales depende del pH es útil conocer el pH de la orina al efectuar el examen microscópico.

c) Cilindros: Se forman en la luz de los túbulos del riñón. Reciben ese nombre porque son moldeados en los túbulos. Pueden formarse por precipitación o

gelificación de la mucoproteína de Tamm-Horsfall<sup>2</sup>, por agrupamiento de células u otros materiales dentro de una matriz proteica, por adherencia de células o de material a la matriz, o por coagulación de material en el interior de la luz tubular.

Los factores que intervienen en la formación de cilindros son los siguientes: esteasis urinaria, acidez incrementada, elevada concentración de solutos y la presencia de constituyentes anormales iónicos o proteicos. Al ser de origen renal, constituyen importantes indicadores de enfermedad renal intrínseca. Pueden presentarse en casos de daño glomerular, tubular, inflamación renal e infección renal.

Los diferentes tipos de cilindro son: hialinos, eritrocitarios, leucocitarios, epiteliales granulados, céreos y grasos. Su presencia, se informa haciendo referencia al tipo y número por campo de bajo aumento (100x).

- d) Estructuras diversas: otras estructuras que pueden aparecer en la orina son las bacterias, hongos, cilindroides, espermatozoides, moco y grasa.
- e) Artificios: debido a la forma de recolección y transporte, pueden encontrarse objetos extraños como cristales de almidón, fibras de tela, gotas de aceite, cabello, fragmentos de vidrio, burbujas de aire y partículas de talco, por mencionar algunos ejemplos.
- f) Parásitos: Ocasionalmente pueden encontrarse en orina, sea porque ocupan el tracto urinario o como resultado de contaminación fecal o vaginal.

---

<sup>2</sup> Los túbulos renales secretan una mucoproteína denominada de tamm-Horrsfall la cual se piensa, forma la matriz de todos los cilindros (McQueen, 1966).

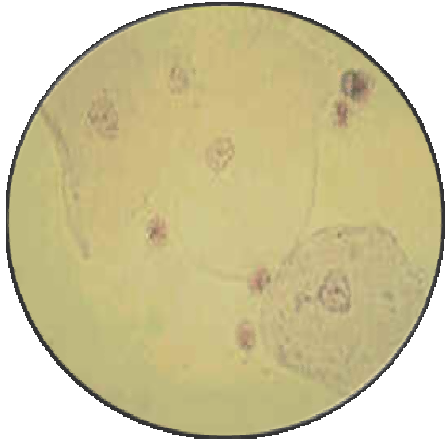


Fig. 19 Células escamosas



Fig. 20 Células epiteliales



Fig.21 Cilindro céreo

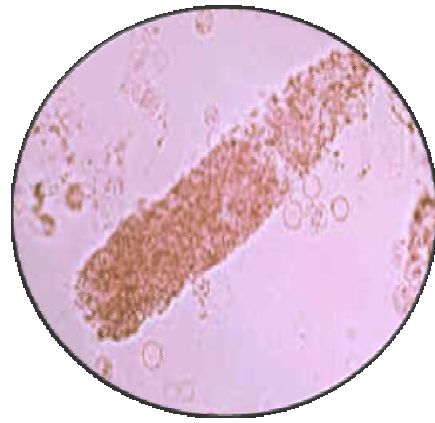


Fig.22 Cilindro granuloso



Fig. 23 Cilindro leucocitario



Fig. 24 Glóbulos rojos



Fig. 25 Fosfato triple y amorfo

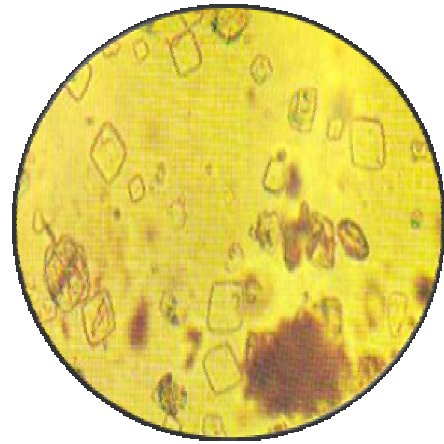


Fig. 26 Cristales de Acido úrico

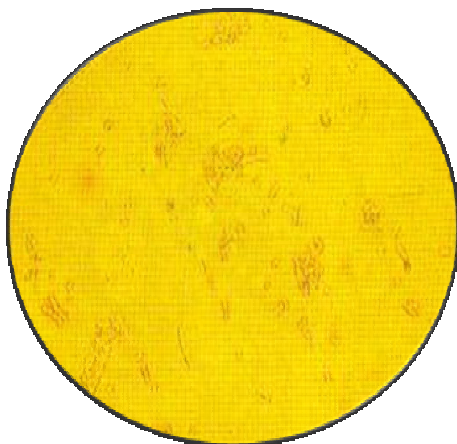


Fig. 27 Bacterias

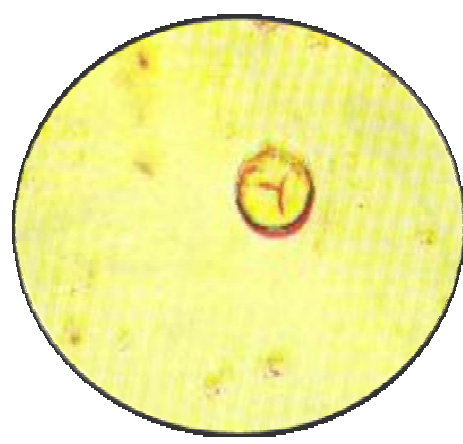


Fig. 28 Cristal de almidón

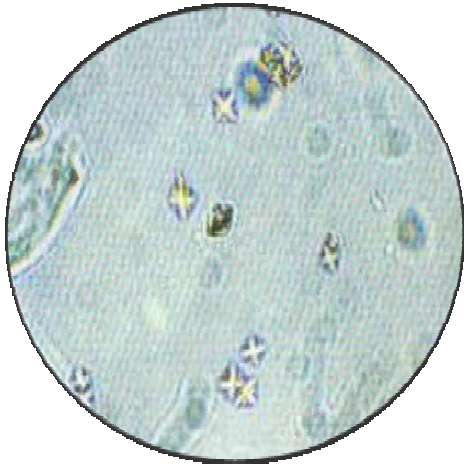


Fig. 29 Oxalato de calcio

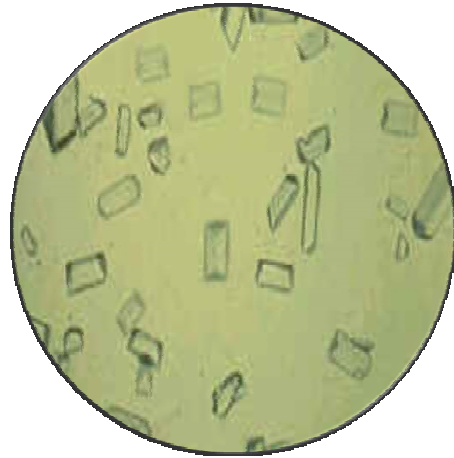


Fig. 30 Fosfato triple.

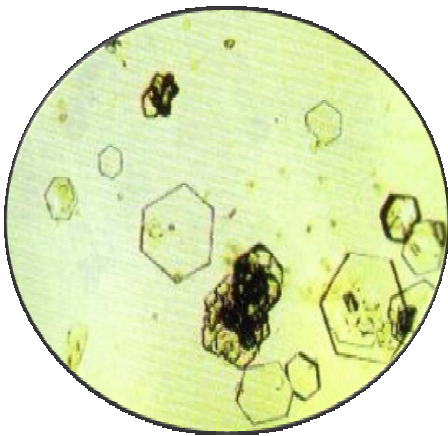


Fig.31 Cristal de cistina

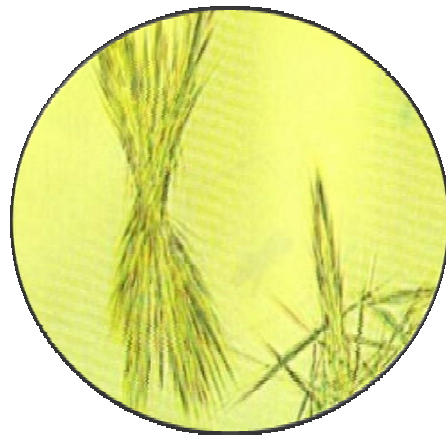


Fig. 32 Cristales de tirosina

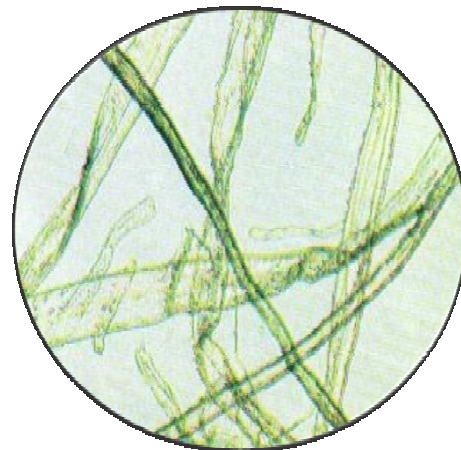
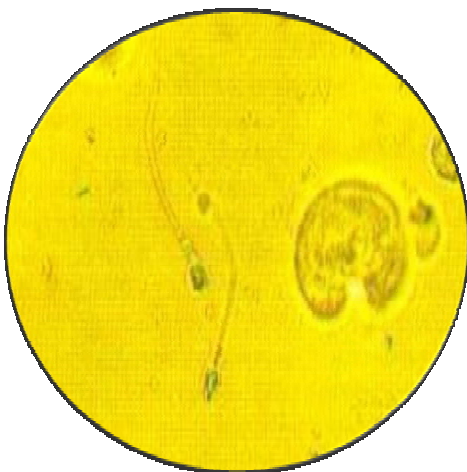


Fig.33 Espermatozoides

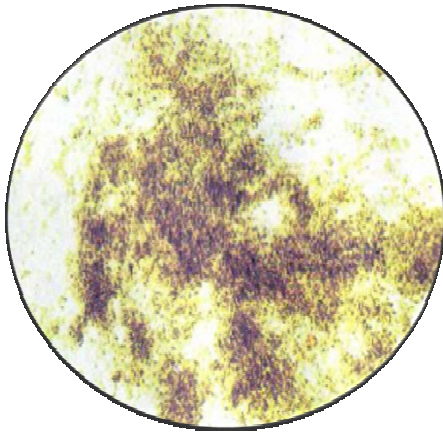


Fig.35 Urato amorfo

Fig.34 Fibras

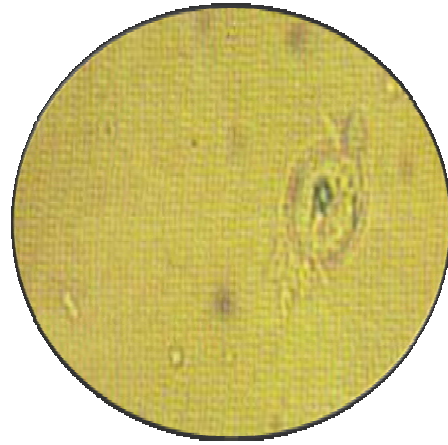


Fig. 36 Trichomonas vaginalis

## **D) CONTROL DE CALIDAD**

El Control de calidad no sólo en un laboratorio de diagnóstico sino en cualquier lugar donde se preste un servicio es de suma importancia, pues garantiza la eficiencia del trabajo y la obtención de resultados verídicos.

El laboratorio de diagnóstico clínico debe tener un estricto control de la calidad de cada aspecto que maneja, es decir, un constante control de calidad sobre todas las etapas en el recibo, manejo y reporte de especímenes clínicos, de equipos, reactivos, técnicas de trabajo, instalaciones y procedimientos, todo con el fin de proporcionar resultados confiables para establecer un buen diagnóstico y por lo tanto un tratamiento acertado al paciente.

En general este control debe identificar, monitorear, evaluar y aprobar metodologías relativas al cuidado del paciente, debe incluir además un Manual de Procedimientos, validación de metodologías y equipos, el desarrollo de ciclos de educación continuada, elementos de bioseguridad y una supervisión sobre los reportes generados. En éste sentido se hace énfasis en la correcta valoración de las pruebas de laboratorio.

El término control de calidad se utiliza para designar los procedimientos que valoran un funcionamiento correcto. Comprende las técnicas estadísticas cuantitativas que detectan las fuentes de error, calculan la magnitud de los errores y alertan cuando se producen indicaciones de que se ha deteriorado la calidad. Por lo tanto, el control de calidad es el estudio de los errores del laboratorio y los procedimientos utilizados para detectarlos y reducir su número.

Con la automatización y la mecanización actual de los laboratorios clínicos, los fallos humanos son los responsables de la mayoría de los errores que se producen en ellos, por lo que es de suma importancia la competencia técnica del personal y de su dirección.



El control de calidad en el laboratorio tiene como objetivo, que el producto final del trabajo tenga un grado aceptable de seguridad, de conformidad con los límites establecidos.

Un programa de control de calidad debe contar con los siguientes elementos mínimos:

- ✓ Las pruebas y los procedimientos.
- ✓ Verificación y validación de pruebas.
- ✓ Manual de procedimientos.
- ✓ Mantenimiento de reportes y libros récord.
- ✓ Evaluación del personal.
- ✓ Controles externos.

El Aseguramiento de la Calidad, es un concepto un tanto más difícil de cuantificar que el control de calidad, ya que su foco es el impacto de las pruebas de laboratorio en el cuidado del paciente. Este control nos indica que tan bueno es nuestro trabajo y establece mecanismo para asegurar la generación de información de utilidad clínica rápida y segura. Este concepto incluye entrenamiento y calificación del personal, evaluación de los reportes, rapidez y seguridad diagnóstica, certificación de los laboratorios, controles externos, etcétera. El Control de Calidad y el Aseguramiento de la Calidad son similares en sus propósitos, aunque su significado y su manera de funcionar sean diferentes, Sin embargo, ambos conceptos deben desarrollarse interactivamente durante un programa de control de calidad.

El laboratorio clínico de la CLINAVSUR lleva a cabo un estricto control de calidad tanto interno como externo.

**Control de calidad interno** que se comprueba diariamente y se utiliza para:

1. La toma de decisiones diaria: Si los resultados están dentro de los límites de confianza pueden ser entregados.
2. La toma de decisiones a medio y largo plazo (control retrospectivo y detección de tendencias).

Un elemento fundamental en la filosofía del control de calidad moderno es la utilización generalizada de procedimientos científicos, incluidos los métodos estadísticos, en la planificación, recogida de datos y análisis de los mismos, de tal forma que las decisiones no se sustenten en meras conjeturas. Así, el control estadístico de procesos es la metodología que utilizando fundamentalmente gráficos permite monitorizar la estabilidad (calidad) de un proceso de producción o de suministro de un servicio, de forma que se detecte, cuanto antes, cualquier situación inadecuada; lo que permitirá eliminar las causas especiales de variabilidad en la obtención del resultado final.

Los gráficos de control fueron propuesto originalmente por W. Shewart en 1920, y en ellos se representa a lo largo del tiempo el estado del proceso que estamos monitorizando. En el eje horizontal X se indica el tiempo, mientras que el eje vertical Y se representa algún indicador de la variable cuya calidad se mide. Además se incluye otras dos líneas horizontales: los límites superior e inferior de control, escogidos éstos de tal forma que la probabilidad de que una observación esté fuera de esos límites sea muy baja si el proceso está en *estado de control*, habitualmente inferior a 0.01.

En cualquier proceso, incluida la prestación de servicios sanitarios, se produce variabilidad. En cada caso el origen de esa variabilidad puede ser muy diverso, por un lado tenemos causas impredecibles, de origen desconocido, y por tanto en principio inevitable, y por otro lado, causas previsibles debidas a factores humanos, a los instrumentos o a la organización. Estudiando meticulosamente cualquier proceso es posible eliminar las causas asignables, de tal forma que la

variabilidad todavía presente en los resultados sea debida únicamente a causas no asignables; momento en el que diremos que el proceso se encuentra en *estado de control*.

La finalidad de los gráficos de control es por tanto monitorizar dicha situación para controlar su buen funcionamiento, y detectar rápidamente cualquier anomalía respecto al patrón correcto, puesto que ningún proceso se encuentra espontáneamente en ese estado de control, y conseguir llegar a él supone un éxito, así como mantenerlo; ése es el objetivo del control de calidad de procesos, y su consecución y mantenimiento exige un esfuerzo sistemático, en primer lugar para eliminar las causas asignables y en segundo para mantenerlo dentro de los estándares de calidad fijados.

Así pues el control estadístico de calidad tiene como objetivo monitorizar de forma continua, mediante técnicas estadísticas, la estabilidad del proceso, y mediante los gráficos de control este análisis se efectúa de forma visual, representando la variabilidad de las mediciones para detectar la presencia de un exceso de variabilidad no esperable por puro azar, y probablemente atribuible a alguna causa específica que se podrá investigar y corregir.

Existen varios tipos de gráficos de control, el más usado y conocido es el GRÁFICO DE CONTROL DE LA MEDIA, que es un grafico de control por variable, también conocido como GRÁFICO DE SHEWHART, y en QUÍMICA CLÍNICA GRÁFICO DE LEVEY-JENNINGS.

Un programa de control de calidad interno incluye:

- ✓ Un método para registrar los parámetros clave (controles)
- ✓ Cartas de control (Shewhart o Levey-Jennings) u otros
- ✓ Reglas de Shewhart

El objetivo de los gráficos de control es determinar de forma visual y por tanto sencilla cuándo un proceso se encuentra fuera de control, con una probabilidad de error pequeña.

La primera indicación de que el proceso puede estar fuera de control viene dada por la presencia de algún punto fuera de los límites de control.

Para facilitar la detección de patrones anómalos o poco probables en un proceso en estado de control, conviene dividir en tres zonas de igual tamaño el área situada a ambos lados de la línea central, entre ésta y los límites de control, como vemos en la siguiente figura:

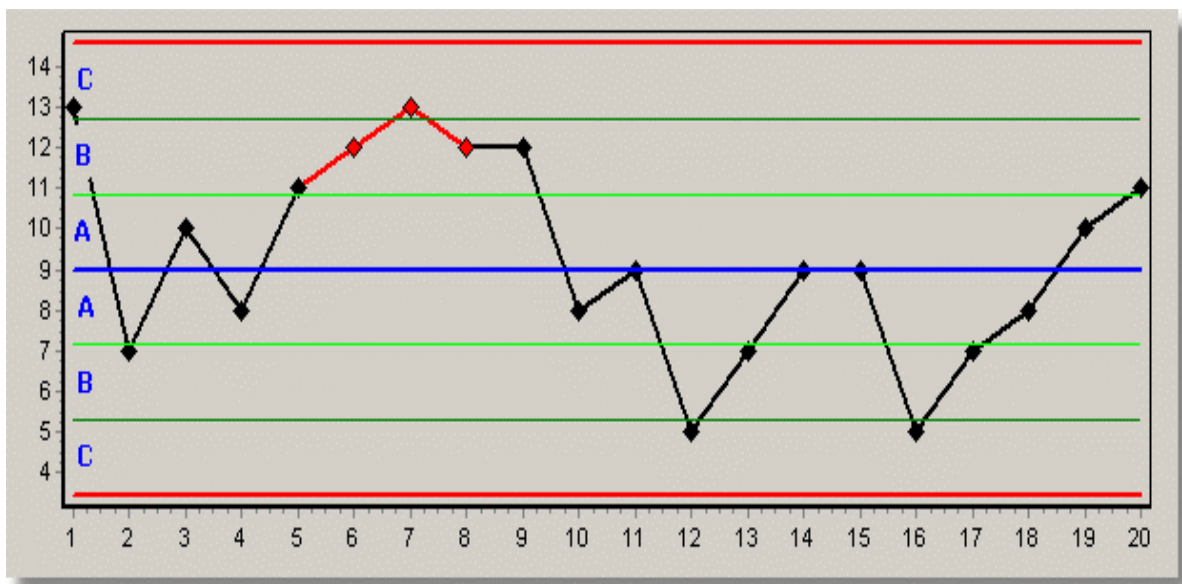


Fig.37 Gráfico de control con zonas intermedias

Si en el gráfico se está utilizando la desviación típica para calcular los límites de control, estas zonas corresponden a 1, 2 y 3 desviaciones típicas, que están macadas en la figura como A, B y C respectivamente.

Otra posible señal de que el proceso está fuera de control se da cuando aparecen un elevado número de puntos consecutivos al mismo lado de la línea central: si nos encontramos 8 puntos seguidos al mismo lado de la línea central, o 10 puntos de 11, o 12 de 14.

Cualquier tratado sobre implantación de procesos de calidad presenta una serie de reglas caseras para detectar diferentes series de datos improbables. Además de las dos anteriores destacamos las siguientes:

- 2 de 3 puntos seguidos en la zona C
- 4 de 5 puntos seguidos en la zona B o más allá (como vemos que pasa en la [figura 2](#) en los puntos marcados en rojo)
- 6 puntos seguidos ascendentes o descendentes
- 8 puntos seguidos fuera de la zona A, a ambos lados de la línea central

En cualquier caso siempre hay que estar atento a la presencia de patrones o tendencias en los gráficos de control.

Estas reglas pueden ser incluso más restrictivas (alerta para un nivel de probabilidad más bajo), si así lo requiere el proceso que se controla. Así por ejemplo en el mundo del control de calidad para los laboratorios de análisis clínicos son muy conocidas las denominadas reglas de Westgard, que no son más que una adaptación concreta de los razonamientos expuestos al control de calidad para un analizador del laboratorio, aparato en el que diariamente se efectuarán muestras de control de calidad para verificar que está funcionando adecuadamente. Los resultados obtenidos en estas muestras se representan en un gráfico de Levey-Jennings, y se aplican una serie de reglas probabilísticas de decisión en las que existen dos niveles: un nivel de alerta y un nivel de rechazo. Así una observación en la zona C o por encima supone una alerta y fuera de la zona de control, por encima de los límites de control obliga a rechazar los análisis efectuados.

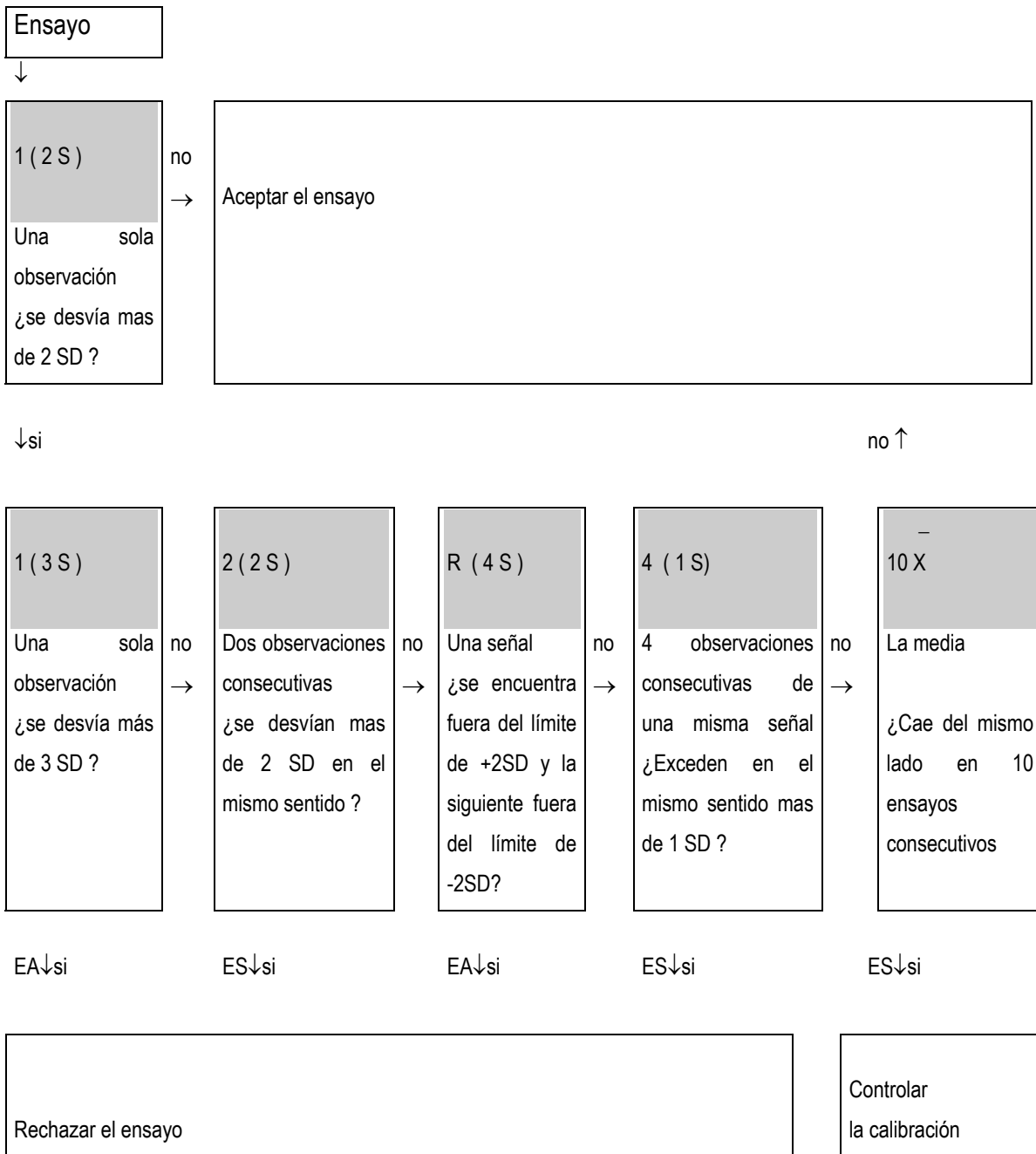
#### Gráficos de cusum

Los gráficos de Levey- Jennings no son tan sensibles a pequeños cambios en los promedios. Un desvío consistente se verifica mejor en los gráficos de Cosum.

- Usa el mismo formato que los de Levey- Jennings
- Se grafica la diferencia entre el nuevo valor y el valor promedio.
- Cualquier error sistemático se refleja en una pendiente en cualquier sentido.

- El valor de dicha pendiente, es proporcional a la magnitud del desvío.
- Normalmente se considera aceptable hasta un umbral de 0.5 -1 SD.
- Si se excede el umbral, se inicia un nuevo trazado de tendencia desde el promedio.
- El usuario estipula los límites ( 2 o 3 SD) para rechazar el control.
- Es muy útil en las pruebas para la corrección de errores.

Reglas de SHEWHART



**Control de calidad externo:** Remitiendo muestras para su procesamiento a otras unidades médicas (y viceversa) como el laboratorio clínico del Centro Médico Naval o el de la Clínica Naval de Cuernavaca

Para garantizar la calidad, el laboratorio clínico debe controlar las condiciones analíticas, las preanalíticas y las postanalíticas.

### **Control de la calidad preanalítica**

El control de las condiciones preanalíticas incluye factores ajenos a la determinación analítica, aunque muchos de ellos queden fuera de los límites del laboratorio, éste debe conocer todos los pasos desde la obtención del espécimen hasta que ingresa, e identificar los pasos donde puedan producirse errores o variaciones.

Las variables preanalíticas son las posibles fuentes de error localizadas antes de la medida analítica. Resulta complicado controlar estas variables debido a que la mayoría se producen fuera del laboratorio. Los principales factores preanalíticos que deben controlarse son: la identificación de los pacientes, la obtención de los especímenes, el transporte de éstos al laboratorio, así como su preparación, distribución y almacenamiento.

### **Control de la calidad analítica**

El laboratorio debe elaborar manuales y registros para documentar y tener el control de todos los procedimientos realizados en el laboratorio.

Debe incluirse el material suministrado por las casas comerciales solicitando su registro de control de calidad.

Los profesionales del laboratorio clínico deben aprovechar las oportunidades para hacer investigación y desarrollar adicionalmente sus capacidades en la solución de problemas. Existen dos tipos de error que pueden presentarse al realizar un análisis:

- Error sistemático que es un error persistente que se repite con el tiempo (puede ser constante o proporcional a la concentración de la sustancia analizada o analito), se debe a la presencia de sustancias que interfieren en la determinación, a reacciones colaterales del analito o a un ajuste del blanco (valor de lectura cero) deficiente.
- Error aleatorio el cual se debe a factores que afectan a la reproductibilidad ej. por imprecisión de las pipetas, por relevo del personal durante la jornada de trabajo

### **Control de la calidad post analítica**

Deben vigilarse factores como:

- Confirmación de los resultados
- Valores biológicos de referencia
- Puntualidad
- Reporte de resultados
- Confidencialidad
- Registro de errores y acciones correctivas



**Fig. 38 Fases de control de calidad.**

Fase preanalítica	<ul style="list-style-type: none"><li>• Consulta del clínico o paciente.</li><li>• Prescripción analítica</li><li>• Preparación del paciente</li><li>• Condiciones de toma de muestra</li><li>• Manipulación y conservación de muestras</li><li>• Transmisión y cadena de custodia de muestras</li><li>• Recepción de muestras</li></ul>
Fase analítica	<ul style="list-style-type: none"><li>• Tratamiento de muestras</li><li>• Análisis</li></ul>
Fase postanalítica	<ul style="list-style-type: none"><li>• Información de los resultados: validación biológica, interpretación y recomendaciones</li><li>• Entrega de informes analíticos</li><li>• Información adicional al clínico, si procede</li></ul>
Otras actividades	<ul style="list-style-type: none"><li>• Consultoría y asesoría biodiagnóstica</li><li>• Estudio e intervención activa en los actos científicos de su ámbito asistencial</li><li>• Gestión del laboratorio incluyendo la calidad y el Sistema de Gestión de Calidad</li></ul>

La información que proporcionan las determinaciones de laboratorio, es la base para la toma de decisiones clínicas en el manejo de los pacientes.

Tener un plan de calidad proporciona los medios necesarios para lograr el funcionamiento óptimo del laboratorio.

El contar con un sistema de calidad, permite obtener un reconocimiento formal a través de un proceso de Certificación con la Norma Nacional (NOM166) o Internacional (ISO 9001-2000).

## E) BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO CLINICO

En todo laboratorio existen riesgos potenciales que requieren una atención especial. Si a esto le añadimos el hecho de que en el laboratorio clínico trabajamos con muestras biológicas humanas, la peligrosidad aumenta considerablemente.

Para prevenir accidentes es necesario interponer una serie de barreras, así hablamos de:

- Barreras primarias: las localizadas en torno al origen del riesgo. Ej. En casos de derrames o salpicaduras se deben usar desinfectantes o si se existe riesgo de microorganismos peligrosos se debe tenerse bioseguridad.
- Barreras secundarias: localizadas en el círculo del operador. Incluyen:
  - ✓ Higiene personal rigurosa
  
  - ✓ Vacunación
  
  - ✓ Programas de salud laboral
  
  - ✓ Vestimenta: uso de bata, guantes (su uso se recomienda cuando se trate de sangre, materiales relacionados con hepatitis y SIDA y para manejo de agentes patógenos; hay que tener precaución para no transformarlos en un vehículo de transmisión de la infección) y gafas.
- Barreras terciarias: localizadas alrededor del laboratorio, evitan que los riesgos del laboratorio puedan repercutir en la comunidad. Así, no se debe salir con ropa de trabajo, debe haber contenedores para material biopeligroso.

Toda unidad médica, como tal, es generadora de materiales contaminados por agentes biológico-infecciosos. Estos desechos se denominan Residuos Peligrosos Biológico Infecciosos (RPBI).

El manejo, almacenamiento, transporte, tratamiento y disposición final de los RPBI's se encuentra regulado en la Norma Oficial Mexicana 087 ( NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002) la cual

fue elaborada en forma conjunta por las Secretarías de Salud (SSA) y de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). Obedeciendo a los lineamientos de dicha norma, este laboratorio es clasificado dentro del Nivel I de establecimientos generadores e RPBI's ya que son realizados menos de 50 análisis diarios.

Los generadores y prestadores de servicios, además de cumplir con las disposiciones legales aplicables, deben cumplir con las disposiciones correspondientes a las siguientes fases de manejo, según el caso:

- a) Identificación de los residuos.
- b) Envasado de los residuos generados.
- c) Almacenamiento temporal.
- d) Recolección y transporte externo.
- e) Tratamiento.
- f) Disposición final.

### **Identificación y envasado**

En las áreas de generación de los establecimientos generadores, deben separarse y envasar todos los residuos peligrosos biológico-infecciosos, de acuerdo con sus características físicas y biológicas infecciosas, conforme a la Norma. Durante el envasado, los residuos peligrosos biológico-infecciosos no deberán mezclarse con ningún otro tipo de residuos municipales o peligrosos.

Tipo de residuo	Estado físico	Envasado	Color
<b>Sangre</b>	<b>Líquidos</b>	<b>Recipientes herméticos</b>	<b>Rojo</b>
Cultivos y cepas de agentes infecciosos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Rojo
Patológicos	Sólidos/Líquidos	Bolsas de polietileno/Recipientes herméticos	Amarillo
Residuos no anatómicos	Sólidos/Líquidos	Bolsas de polietileno/Recipientes	Rojo

		herméticos	
<b>Objetos punzocortantes</b>	<b>Sólidos</b>	<b>Recipientes rígidos polipropileno</b>	<b>Rojo</b>

Las bolsas deben ser de polietileno de color rojo traslúcido de calibre mínimo 200 y de color amarillo traslúcido de calibre mínimo 300, impermeables y con un contenido de metales pesados de no más de una parte por millón y libres de cloro, además deben estar marcadas con el símbolo universal de riesgo biológico y la leyenda Residuos Peligrosos Biológico-Infeciosos .Se llenan al 80 por ciento (80%) de su capacidad, cerrándose antes de ser transportadas al sitio de almacenamiento temporal y no pueden ser abiertas o vaciadas.

Los recipientes de los residuos peligrosos punzocortantes deben ser rígidos, de polipropileno color rojo, con un contenido de metales pesados de no más de una parte por millón y libres de cloro, que permitan verificar el volumen ocupado en el mismo, resistentes a fracturas y pérdidas de contenido al caerse, destructibles por métodos físicos, tener separador de agujas y abertura para depósito, con tapa(s) de ensamble seguro y cierre permanente, deben contar con la leyenda que indique "RESIDUOS PELIGROSOS PUNZOCORTANTES BIOLOGICO-INFECIOSOS" y marcados con el símbolo universal de riesgo biológico. Se llenan se llenarán hasta el 80% (ochenta por ciento) de su capacidad, asegurándose los dispositivos de cierre y no deben ser abiertos o vaciados.

### **Almacenamiento**

Debido a que este laboratorio se encuentra clasificado dentro de los establecimientos de nivel 1, el periodo e almacenamiento de RPBI's para un es de 30 días máximo y los contenedores están ubicados en el lugar más apropiado dentro de nuestras instalaciones a manera de no obstruir las vías de acceso. Así mismo dicha área se encuentra separada de las áreas de atención de pacientes, es de fácil acceso, cuenta con señalamientos y letreros alusivos a la peligrosidad de los mismos, en lugares y formas visibles,

### **Recolección y transporte externo y tratamiento**

Para la recolección y el transporte de los residuos peligrosos biológico-infecciosos la CLINAVSUR ha contratado los servicios de una empresa. Este laboratorio no realiza ningún procedimiento de tratamiento a dichos residuos.

## II. CONCLUSIONES

Mi estancia en el Laboratorio de la Clínica Naval del Sur me ha dejado muchas experiencias y ha contribuido enormemente no solo en mi formación sino en mi consolidación profesional, aunque no es el campo en el que en un futuro cercano desearía seguir desempeñándome es un área que me ha servido mucho conocer, pues he aprendido factores importantes que deben aplicarse en cualquier ámbito profesional: la calidad en el trabajo, el trabajo en equipo, la responsabilidad y la ética profesional.

Aunque no abarca todo lo que se realiza dentro del área clínica y podría asegurar que es solo una pequeña parte de ella, muestra un panorama general de las actividades del Químico Farmacéutico Biólogo en el laboratorio clínico.

### III. GLOSARIO

- Adsorber: es un proceso por el cual átomos, iones o moléculas son retenidas en la superficie de un material, en contraposición a la absorción, que es un fenómeno de volumen.
- Aglutinación: Agregación de antígenos particulados por medio de anticuerpo sobre la superficie de glóbulos rojos y bacterias.
- Anticoagulante: Sustancia que impide la coagulación.
- Anticuerpo: Proteínas del suero que se forman en respuesta a la inmunización.
- Antígeno: Sustancia extraña a un organismo, capaz de desencadenar la producción de una respuesta inmune. Blanco de los anticuerpos.
- Control: Sustancia de concentración conocida que se utiliza como referencia o testigo en las determinaciones cualitativas y cuantitativas, para detectar interferencias o errores analíticos.
- Determinante antigénico: Parte de una molécula capaz de estimular la producción de un anticuerpo específico.
- Exactitud: Capacidad de un [instrumento](#) de medir un valor cercano al valor de la magnitud real
- Enzima: Proteína que cataliza específicamente cada una de las reacciones bioquímicas del metabolismo.

- Flebotomía: Procedimiento por el cual se punciona una vena o arteria para la obtención de muestras sanguíneas.
- Hematíes: eritrocitos, Glóbulos rojos.
- Hemolisis: Aparición de hemoglobina en el plasma por lisis de los hematíes.
- Hormona: Sustancia de origen endógeno que regula la actividad metabólica celular por muy diferentes mecanismos específicos.
- Inmunoglobulina: Tipo de glucoproteínas capaz de actuar como anticuerpo se encuentra en plasma y fluidos tisulares.
- Lipemico: Suero con alto contenido de lípidos.
- Monoclonal: Pertenece a una proteína específica obtenida de un clon celular, con lo que todas las moléculas de esta proteína son idénticas.
- Precisión: Es la capacidad de realizar medidas similares a la media.
- Vacuna: Producto biológico utilizado para obtener inmunización activa artificial contra una enfermedad específica.



#### IV. REFERENCIAS

1. BASUALDO, Juan. "Microbiología biomédica". Ed. ATLANTE S.R.L. Buenos Aires, 1996.
2. BERGMAN, A.; Ohman,.G., "Clinical Chemistry", 26/12 (1980) 1729-1732.
3. BRUNZEL, Nanci. "Fundamentals of urina & body fluids" 2a ed. Ed. Saunders, China, 2004. Págs. 19, 26, 107-315, 224-231.
4. CANN Alan. "Principles of molecular virology". University of Leicester, UK. ACADEMIC PRESS. 1993.
5. CARBALLAL Guadalupe, OUBIÑS José. "Virología médica". 3ª ed. LIBRERIA EL ATENEO. Buenos Aires. 1998
6. FERNANDEZ Espina, C. "Gestión de la Calidad en el Laboratorio Clínico". Ed. Médica Panamericana, México, 2005. Págs. 14-16.
7. FIELDS, Bernard y KNIFE, David. "Fields Virology". 3a ed. Ed. Raven Press. New York. 1996
8. GAW, Allan. "Bioquímica clínica". 2ª ed. Ed. Harcourt. México, 2001.
9. GONZALEZ de Buitrago José Manuel. "Técnicas y Métodos de laboratorio clínico". 2ª ed. Ed. Masson.México, 2004. Págs. 3, 6, 9, 49-67, 107-117,
- 10.GRAFF Sister, Laurine. "Análisis de orina, atlas a color". Ed. Médica Panamericana, 1987. Pags. 22, 24-27, 32-35, 46-55, 65-107.

11. RUIZ Argüelles, G.J. "Fundamentos de Hematología", 3ª ed. Ed. Médica Panamericana, México 2004. Págs.45-60.
12. TIETZ N.W., *Fundamentos de Química Clínica*, 2 edición, W.B. Saunders Co., Filadelfia, 1982, p.506.
13. TURGEAN, Mary Louise. "Hematología clínica", Ed. El Manual Moderno, México 2006. Págs. 3-49.
14. WEBSTER, Robert. "Encyclopedia of virology". Academic Press. London. 1994.
15. WHITE Frank, FENNER J., "Medical virology". 4a ed. Ed. Academic Press. London. 1994
16. YOUNG, D.S., Pesterman, L.C., y Gibberman, V., *Química Clínica* 21 278D (1975).
17. VILLATORIO, Luis Moran. Obtención de muestras sanguíneas de calidad analítica. Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica A.C. Ed. Médica Panamericana. México, 2001. Págs. 17-58.61-89
18. [http://www.cadime.com.ar/Aacreat .pdf](http://www.cadime.com.ar/Aacreat.pdf)
19. [http://www.catacheminc.com/index\\_files/Page10042.htm](http://www.catacheminc.com/index_files/Page10042.htm)
20. <http://www.cimascientific.com/2500S.htm>
21. <http://www.seh-lilha.org/calidad.htm>