



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

CENTRO MÉDICO NACIONAL "LA RAZA"
UMAE HOSPITAL DE GENERAL
"DR. GAUDENCIO GONZALEZ GARZA"

COMPARACIÓN DE LA TÉCNICA DE CENTRIFUGACIÓN
INMEDIATA CONTRA LA HABITUAL EN LA DETERMINACIÓN
DE LOS VALORES DE SEIS ANALITOS DE BIOQUÍMICA EN
PACIENTES DE LA CONSULTA EXTERNA DEL HE CMN "LA
RAZA"

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALIDAD EN

PATOLOGÍA CLÍNICA

PRESENTA:

DR. ALDO ENRÍQUEZ OSORIO

ASESOR: DR. CARLOS RAMÍREZ RAMOS

CIUDAD DE MÉXICO; 2017





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.

INVESTIGADORES

ASESOR:

Dr. Carlos Ramírez Ramos

Jefe de servicio de transfusiones de laboratorio central. Especialista en patología clínica.

UMAЕ Hospital de Especialidades “Dr. Antonio Fraga Mouret”. Centro Médico Nacional “La Raza”

CO-ASESORES

Dra. Carla Ileana Arroyo Anduiza

Médico no familiar. Especialista en patología clínica.

Banco Central de Sangre. Centro Médico Nacional “La Raza”.

Dra. Laura López Pelcastre

Jefe de laboratorio central. Especialista en patología clínica.

UMAЕ Hospital de Especialidades “Dr. Antonio Fraga Mouret”. Centro Médico Nacional “La Raza”

QBP. Erika Martínez Sánchez

Matrícula: 99369785

Químico clínico del área de bioquímica de laboratorio central

UMAЕ Hospital de Especialidades “Dr. Antonio Fraga Mouret”. Centro Médico Nacional “La Raza”

ALUMNO:

Dr. Aldo Enriquez Osorio

Residente de tercer año de especialidad de patología clínica

UMAЕ Hospital general “Dr. Gaudencio González Garza”. Centro Médico Nacional “La Raza”

**COMPARACIÓN DE LA TÉCNICA DE CENTRIFUGACIÓN INMEDIATA
CONTRA LA HABITUAL EN LA DETERMINACIÓN DE LOS VALORES
DE SEIS ANALITOS DE BIOQUÍMICA EN PACIENTES DE LA
CONSULTA EXTERNA DEL HE CMN “LA RAZA”**

Dra. María Teresa Ramos Cervantes

Directora de Educación e Investigación en Salud Del Hospital General. “Dr.
Gaudencio González Garza” U.M.A.E. “La Raza”

Dr. Jesús Arenas Osuna

Jefe de División de Educación en Salud Del Hospital de Especialidades. “Dr.
Antonio Fraga Mouret” U.M.A.E. “La Raza”

Dra. Rita Concepción Gutiérrez Hernández

Profesor Adjunto del Curso de Especialización
En Patología Clínica Del Hospital General. “Dr. Gaudencio González Garza”
U.M.A.E. “La Raza”

Dr. Carlos Ramírez Ramos

Asesor

Medico Patólogo Clínico adscrito al Laboratorio Central Del Hospital de
Especialidades “Dr. Antonio Fraga Mouret” U.M.A.E. “La Raza”

Dr. Aldo Enríquez Osorio

Médico Residente de Tercer Año de la Especialidad de Patología Clínica Del
Hospital General. “Dr. Gaudencio González Garza” U.M.A.E. “La Raza”

-AGRADECIMIENTOS-

A mi hijo Aldo Raúl, por la dicha de tu existencia, porque eres lo más maravilloso de mi vida.

A mi esposa, mi compañera de vida, Viridiana, por la paciencia y el apoyo incondicional para conmigo, por la motivación para el crecimiento y realización de un logro más en mi profesión.

A mis Padres, por el ejemplo y enseñanzas que han hecho de mí una persona con aspiraciones, valores e ideales. Especialmente a mi madre por su apoyo incondicional y sabios consejos.

A Mauricio, Tere, Nico, Santi, Dani, Dante, Omar, Lorenzo, Elim, Walter, Chris y Sebas, por ser y formar parte de mi crecimiento profesional y personal.

A mis amigos por la enseñanza que cada uno de ellos me ha brindado y por el apoyo incondicional. Wendoline, esto no sería posible sin tu apoyo.

A mi familia política por su impulso en todos los aspectos, estaré agradecido de por vida.

ÍNDICE

RESUMEN	6
ANTECEDENTES CIENTÍFICOS	7
JUSTIFICACIÓN	19
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	21
HIPOTESIS	22
OBJETIVO	23
MATERIAL Y MÉTODOS	24
DISEÑO DE ESTUDIO	24
IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES	26
DEFINICIÓN DE VARIABLES	26
CRITERIOS DE SELECCIÓN	29
DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO	30
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	36
ASPECTOS BIOÉTICOS	37
RECURSOS Y FACTIBILIDAD	38
RESULTADOS	39
DISCUSIÓN	41
CONCLUSIÓN	42
ANEXOS	43
HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS	47
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	49

RESÚMEN

Comparación de la técnica de centrifugación inmediata contra la habitual en la determinación de los valores de seis analitos de bioquímica en pacientes de la consulta externa del HE CMN “La Raza”

ENRIQUEZ OSORIO A. (1), RAMÍREZ RAMOS C. (2), ARROYO ANDUIZA C. (3), LÓPEZ PELCASTRE L. (2), MARTÍNEZ SANCHEZ E. (2). Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” U.M.A.E. “La Raza” (1), Hospital de Especialidades “Dr. Antonio Fraga Mouret” U.M.A.E. “La Raza” (2), Banco Central de Sangre. Centro Médico Nacional “La Raza” (3).

Antecedentes:

El porcentaje de errores en la fase preanalítica representa el 62%, por el 15% en la fase analítica y un 23% en la fase postanalítica, convirtiendo la variación preanalítica en el elemento más dominante de la variabilidad global de la prueba. Cada analito de forma individual tiene una tolerancia diferente en el retraso a la separación de suero del coágulo. Muchos son estables durante mucho más tiempo de 2 horas. Se ha visto que los analitos que presentan más variación son la glucosa, creatinina, aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), lactato deshidrogenasa (LDH), fósforo, bilirrubinas, creatina quinasa, potasio, sodio, magnesio, entre otros, dependiendo la metodología utilizada para su estudio. Estamos convencidos que la variación en el método procesamiento podría tener un importante impacto en las concentraciones de glucosa, AST, ALT, LDH, creatinina y fósforo.

Objetivo:

Comparar los valores obtenidos séricos de glucosa, creatinina, AST, ALT, LDH y fósforo, por la técnica de centrifugación/análisis inmediato, contra la técnica de rutina, en pacientes de la consulta externa del Hospital Especialidades del Centro Médico Nacional “La Raza”.

Material y métodos:

Estudio prospectivo, transversal, comparativo. Se obtendrán 460 muestras de sangre de pacientes que acudan a toma de muestra al laboratorio de patología clínica del HE CMN “La Raza” para la realización de estudios de laboratorio del 4 al 29 de julio del 2016. Se obtendrán los tubos necesarios para realizar las pruebas solicitadas y en último lugar un tubo tapón amarillo con gel-separador y activador de la coagulación, en los primeros 30 minutos se centrifugará, separando el paquete globular del suero y se medirán los niveles de los 6 analitos en el equipo ARCHITECplus c800. Las muestras habituales que se centrifugan hasta que el flebotomista termine todas sus tomas de sangre del día, se analizarán por la misma metodología. Se compararán los resultados obtenidos.

TÍTULO

COMPARACIÓN DE LA TÉCNICA DE CENTRIFUGACIÓN INMEDIATA CONTRA LA HABITUAL EN LA DETERMINACIÓN DE LOS VALORES DE SEIS ANALITOS DE BIOQUÍMICA EN PACIENTES DE LA CONSULTA EXTERNA DEL HE CMN “LA RAZA”

ANTECEDENTES CIENTÍFICOS

- *Fases analíticas del laboratorio de patología clínica*

Los procesos del laboratorio clínico relacionados al procesamiento de las muestras de pacientes, están estructurados en tres fases: preanalítica, analítica y postanalítica¹, que abarcan una serie de procedimientos que van desde la adecuada solicitud de un estudio por el médico tratante, pasando por la recolección, análisis, validación, entre otros, hasta llegar el resultado al médico tratante, como se puede apreciar en la imagen 1. Cada una de estas fases es susceptible de errores.

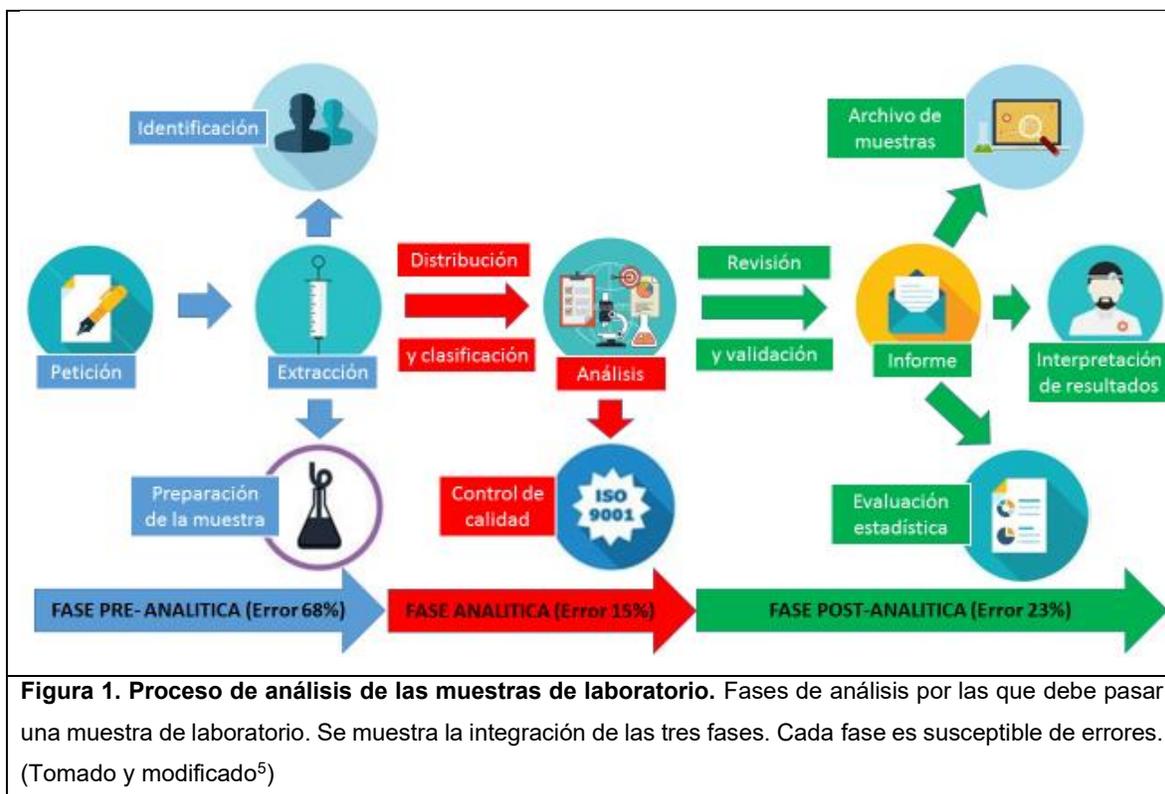


Figura 1. Proceso de análisis de las muestras de laboratorio. Fases de análisis por las que debe pasar una muestra de laboratorio. Se muestra la integración de las tres fases. Cada fase es susceptible de errores. (Tomado y modificado⁵)

La fase preanalítica comprende a partir de la solicitud del análisis por parte del médico tratante hasta que la muestra está lista para ser analizada como se muestra en la imagen 1. La mayoría de los errores en el laboratorio surgen en la fase preanalítica: debido a la manipulación de muestras, la postura del paciente, la estasis venosa, al momento del muestreo, la dieta, el ejercicio, la ingesta de medicamentos, la temperatura de conservación y de transporte, así, como el tiempo de traslado del lugar de recolección al sitio a realizar el análisis, el cual no debe superar las dos horas en base a las recomendaciones internacionales^{2,3}. Es necesario reducir los errores a niveles aceptables, de forma que no causen ningún impacto en la interpretación clínica de los resultados³. Durante la fase analítica la variación analítica ha disminuido con el desarrollo de nuevas tecnologías, por ejemplo; en la determinación de la glucemia, se ha perfeccionado la fase analítica con el uso de métodos enzimáticos y con analizadores sofisticados se han obtenido niveles de imprecisión bajos con coeficientes de variación del 1%-2% en cuanto a métodos individuales y del 3% teniendo en cuenta todos los métodos analíticos⁴. En la fase postanalítica, se reducen a la mala interpretación de los resultados por el médico solicitante, así como a la mala interpretación, omisión o inexistencia de los valores críticos por parte del personal del laboratorio³. El porcentaje de errores en la fase preanalítica representa el 62%, por el 15% en la fase analítica y un 23% en la fase postanalítica⁵, convirtiendo la variación preanalítica en el elemento más dominante de la variabilidad global de la prueba^{1,2,3,5}.

Uno de los cambios que más influyen en la medición de los analitos y que se presenta en la fase preanalítica (y que es evitable) es la hemólisis. Esta es considerada la principal causa de interferencia en la práctica del laboratorio. Esta tiene origen en muchas causas; ya sea por causas propias del paciente, de las condiciones de la flebotomía, en el transporte del espécimen, en el procesamiento y/o en el almacenamiento de la muestra⁶. En cuanto al procesamiento, el retraso de la centrifugación de la muestra (alargando el tiempo de contacto del suero con el coágulo) y la formación incompleta de la integridad de la barrera de separación (algunos eritrocitos se pueden desplazar en suero o plasma, esto debido a una coagulación inadecuada)^{6,7}, obligan a determinar en base a las pruebas realizadas

en cada laboratorio el intervalo de tiempo óptimo entre la recolección de las muestras y la separación del suero del coágulo, permitiendo un tiempo suficientemente largo para permitir la formación completa del coágulo, pero más corto que el tiempo en el que se induce un cambio significativo en el resultado de las pruebas por el contacto del suero con el coágulo. Esto hace que cobre importancia el tiempo de centrifugación de la muestra posterior a la toma, debido a que el contacto prolongado del suero con el coágulo puede causar variaciones preanalíticas^{1,2,3,8,9,10,11,12,13,14,15}.

Cada analito de forma individual tiene una tolerancia diferente en el retraso a la separación de suero del coágulo^{2,3,12,16}. Muchos analitos son estables durante mucho más tiempo de 2 horas. En los hospitales y consultorios de atención ambulatoria, el transporte de muestras de un sitio de flebotomía a un laboratorio a veces tarda más de 2 horas^{2,17}. Si los requisitos de transporte excesivamente rigurosos se establecen para todas las pruebas, muchos especímenes aceptables serían rechazados innecesariamente. Idealmente, un tiempo de transporte específico permitido debe aplicarse para cada analito en una muestra^{2,3,12,16}. Lo idóneo sería agrupar los analitos en bloques de tiempo en el que el contacto del suero y el coágulo no hace que haya cambios en las concentraciones de los analitos^{2,3}. En la práctica, esto no se lleva a cabo en nuestra institución.

Se ha visto que los analitos que presentan más variación son la glucosa, creatinina, urea, aspartato aminotransferasa (AST), alanino aminotransferasa (ALT), deshidrogenasa láctica (LDH), fósforo, bilirrubinas, creatina quinasa (CK), potasio, sodio, magnesio, entre otros, esto determinado según las características de cada estudio^{2,8,9,10,11,12,13,14,18,19}, como se puede observar en la tabla 1.

- *Implicaciones de la cuantificación de glucosa en suero*

La medición de la concentración de glucosa sérica, es una de las pruebas de rutina más comunes dentro del laboratorio clínico, utilizado como un parámetro de medición de la homeostasis del organismo, dentro de sus usos más comunes es la detección de alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos²⁰, monitoreo de complicaciones de diabetes mellitus^{4,21}, tratamiento con insulina²⁰, hiperglucemia

Tabla 1. Comparativo de estudios de variación preanalítica

Estudio (año)	Donadores	Tiempo contacto suero-coágulo	Temperatura procesamiento	Tubo	Análitos analizados	Analitos variables	Observaciones
Laessing et al.⁸ 1971. EEUU	10	1 a 48 hrs.	Ambiente	Rojo	31	Glucosa, LDH, AST, ALT, potasio, fosfatasa alcalina y hierro	Personas sanas
Ono et al.⁹ 1981. Japón	10	20min a 2hrs y a 48 horas	4, 23 o 38 °C	S/E	25	Potasio, calcio, fósforo, AST, ALT, LDH, glucosa	Todas mujeres, muestras alícuotadas, muestras control congeladas.
Chu et al.¹⁰ 1986. Canadá	10	3hrs a 3 días	Ambiente	S/E	26	Creatinina, folatos, glucosa, fósforo, potasio, vitamina B12	Identificación de variación en base a referencia en control de calidad
Rehack et al.¹⁸ 1988. EEUU	20	30 min	Ambiente	Rojo	15	ALT, AST, potasio, fósforo, urea y glucosa	Personas sanas
Heins et al.¹⁹ 1995. Alemania	20	1 a 7 días	9 °C y ambiente	SST	22	Fósforo, ácido úrico, bilirrubinas, triglicéridos, colesterol, y CK	Mediciones por múltiples quipos. Analitos analizado por suero y plasma
Zhang et al.² 1998. EEUU	56	30 min, 3, 6 y 24 hrs.	32 °C	Rojo	63	3 horas; potasio, fósforo, glucosa, 6 horas: albumina, cloro, HDL, hierro, LDL, proteínas totales	Alícuota para análisis posterior.
Boyanton et al.¹¹ 2002. EEUU	----	30 min, 4, 8, 16, 24, 32, 40, 48, y 56 hrs.	Ambiente	SST y PST	24	Glucosa, creatinina, fósforo, urea, LDH, lactato, pH, pO ₂ , pCO ₂	ALT medido en plasma Medición de hemoglobina libre

Tanner et al.¹² 2008. Australia	30	30 min, 4, 8, y 24 hrs	15, 25 o 35 °C	SST	35	Potasio, glucosa, fósforo, creatinina, ferritina, hierro, LDH, magnesio y calcio	Personas sanas Variación analítica en base a criterio de los investigadores.
Oddoze et al.¹³ 2012. Francia	50	2, 4, 6 y 24 hrs	4 y 25 °C	SST, PST, y tubo tapón rojo de vidrio	81	Potasio, magnesio, LDH, glucosa, fósforo y lactato (bioquímica)	Pacientes sanos Tomas en diferentes tubos
Cuhadar et al.¹⁴ 2012. Turquía.	15	30 min, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 48, y 72 hrs	4 y 24 °C	Tubo para suero con y sin gel separador.	16	Glucosa, AST, BUN, HDL, ácido úrico	Personas sanas Tuno marca Vacuette

Referencias:

EEUU: Estados unidos

SST: Tubo marca Vacutainer® tapón dorado, con polímero separador de suero y coagulo

PST: Tuno marca Vacutainer® tapón verde con anticoagulante de heparina de litio.

AST: Aspartato aminotransferasa

ALT: Alanino aminotransferasa

LDH: Lactato deshidrogenasa

CK: Creatina quinasa

HDL: Colesterol de alta densidad (por sus siglas en inglés)

LDL: Colesterol de baja densidad (por sus siglas en inglés)

BUN: Nitrógeno ureico (por sus siglas en inglés)

asociada al enfermo en estado crítico^{22,23,24}, como factor pronóstico en sepsis²⁴, sepsis neonatal²⁵, monitoreo de glucosa en pacientes con síndromes coronarios agudos^{26,27}, abuso de drogas legales o ilegales como por ejemplo metanfetaminas²⁷, en enfermedades como pancreatitis aguda, feocromocitoma, síndrome de Cushing y acromegalia²⁰.

El eritrocito maduro carece de orgánulos sub-celulares²⁸. Y su metabolismo se lleva a cabo por medio de: la vía de glucólisis, el ciclo de las pentosas fosfato, el ciclo del 2,3- bifosfoglicerato, las reacciones de oxido-reducción para la detoxificación de sustancias oxidantes y ciertos aspectos del metabolismo nucleotídico. El eritrocito requiere glucosa para realizar sus funciones metabólicas, de lo contrario entra en eritropsis^{29,30}. De igual forma el leucocito de forma normal consume glucosa por vías aeróbicas. En el de células cancerosas su metabolismo es distinto a las del tejido normal³¹. La alteración del metabolismo sirve para facilitar el crecimiento aumentado y su proliferación, característica de estas células³². Ocupan grandes cantidades de glucosa que se metaboliza a piruvato por una vía glucolítica de gran actividad. Se ha observado que los linfocitos activados llegan a ser altamente glucolíticos produciendo grandes cantidades de lactato para de esta forma seguir produciendo energía^{31,33,34}. Por tal el contacto prolongado del suero con el coágulo, paquete globular y leucocitos puede causar variaciones preanalíticas.

Está demostrado que los niveles de glucosa disminuyen, entre un 5%-10% durante las 1 a 2 horas tras la recolección de la muestra^{4,35,36}, equivalente a un desgaste aproximado por hora de 11 a 20 mg/dL a 37° centígrados y 5 a 11 mg/dL a 22° - 25°, es decir, a temperatura ambiente^{21,37}. Esto, es debido al tiempo de contacto prolongado entre el suero y el coágulo, por la actividad biológica de las células y la difusión de líquido transmembrana que modifican las concentraciones de ciertos analitos en el suero, entre ellos la glucosa^{4,21}. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha declarado que "Las concentraciones de glucosa no deben ser determinados en el suero a menos que se eliminen de inmediato las células rojas, de lo contrario la glucólisis dará lugar a una subestimación impredecible de la concentración real"²¹. El Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) para el manejo y procesamiento de muestras de sangre recomienda que el suero o

plasma debe ser separado físicamente de las células tan pronto como sea posible. Y recomienda un límite máximo de 2 horas desde el momento de la recolección hasta el momento de la separación^{2,4,38,39}. Las guías actuales para laboratorio clínico en el diagnóstico de la diabetes mellitus recomiendan que las concentraciones de glucosa deben ser medidas en suero o plasma separado de las células sanguíneas antes de una hora posterior a la recolección⁴. La forma más práctica para controlar la glucólisis es medir la glucosa de inmediato en la sangre entera o separar el suero o plasma de las células dentro de los 30 minutos de la recolección^{4,21,36,40}. El rápido procesamiento de las muestras recolectadas en tubos de suero-gel, parece ser un medio más sensible para medición de glucosa en suero, comparado con el uso de tubos de fluoruro de sodio^{4,21,41,42}.

- *Implicaciones de la cuantificación de Aspartato aminotransferasa (AST) y la alanina aminotransferasa (ALT)*

Aspartato aminotransferasa (AST) y la alanina aminotransferasa (ALT) son enzimas distribuidas de forma amplia en las células de todos los tejidos y órganos. AST es abundante en el corazón, hígado, músculo esquelético y riñón; mientras que la ALT se observa especialmente en hígado, riñones y en menor cantidad en corazón y músculo esquelético. ALT indica forma más específica de un daño hepático. La distribución de ALT es exclusivamente citoplasmática, mientras que AST presenta la forma citoplasmática y mitocondrial. La importancia de éstas enzimas radica en su capacidad de apoyo al diagnóstico para afección hepática, ya sea por daño viral, tumoral o ambiental, así como por consecuencia de daño miocárdico o muscular^{43,44}.

Se han identificado algunas de las alteraciones que afectan en la fase preanalítica en la medición de AST y ALT, así como los resultados espurios obtenidos de estas mediciones, como se describe en la tabla 2. Anteriormente se documentó, la variabilidad que presentan estas enzimas conforme pasa en contacto con el coágulo sin poder determinar concluyentemente si la separación inmediata evita sus variaciones^{8,9,18,43,45}. Cabe mencionar que existe cierta variabilidad a analítica en la

determinación de los niveles de transaminasas, por eso el CLIA acepta un error de 10 a 20% en la evaluación de las mediciones de aminotransferasas entre distintos laboratorios^{43,44,45,46}. Es necesario mejorar perfeccionar las pruebas cuantitativas basadas en metodologías inmunométricas, como ocurre para la determinación de CPK-MB en aspectos de pacientes cardíopatas⁴³. Por lo tanto, en lo que se perfeccionan estas metodologías es necesario controlar los factores intrínsecos en la toma, manipulación, preparación, transporte y demás factores que intervienen en la fase preanalítica.

Tabla 2: Factores de variabilidad que pueden afectar el resultado de AST y ALT, de modo independiente de las patologías hepáticas

Factor	AST	ALT
Hora de extracción	Escasa influencia	45% de su variación; concentraciones más elevadas a la tarde y más bajas por la noche
Variación en días	5 – 10% de oscilación de los valores de un día a otro	10 – 30% de oscilación de los valores de un día a otro
Índice de masa corporal; relación directa entre el peso y niveles de AST y ALT	Aumento de 40 – 50% con índice de masa corporal elevado	Aumento de 40 – 50% con índice de masa corporal elevado
Ingesta de alimentos	Ningún efecto	Ningún efecto
Ejercicio	Aumento de 3 veces la norma con el ejercicio continuo	Reducción de 20% en sujetos que ejercen una constante actividad física
Efecto de las temperaturas de conservación (suero separado del coagulo)	Estable a temperatura ambiente por 3 días; a 4 – 8 C por 3 semanas (10% de reducción); por	Estable a temperatura ambiente por 3 días; a 4 – 8 C por 3 semanas (10 - 15% de reducción). Reducciones marcadas por

	años a – 20 C (10 – 15% de reducción)	procedimientos de congelación/descongelación
Hemólisis in vitro; anemia hemolítica	Aumento significativo según el grado de hemólisis; por lo general aumentos menos significativos con respecto a la LDH	Aumento moderado

- *Implicaciones de la cuantificación de lactato deshidrogenasa (LDH)*

Es una enzima que cataliza la oxidación del lactato a piruvato. Se encuentra presente en al menos 8 isoformas, LD 1 a 5, así como en últimos años descubiertas 3 isoenzimas; LD-C en tejido testicular y espermatozoides, la LD-6 presente en sueros de pacientes terminales y la macro-LD ligada a IgA o IgM. Esta enzima es de gran utilidad para el pronóstico de enfermedades onco-hematológicas y otras como: el infarto de miocardio, descompensación congestiva pulmonar, infarto/embolia pulmonar, hepatitis viral, hepatitis tóxica, cirrosis, leucemia granulocítica, anemia megaloblástica, anemia hemolítica, carcinomatosis difusa, distrofia muscular, entre otras^{43,47}.

La actividad de LDH está presente en todas las células, en el citoplasma, así la lisis de las células hace que los niveles de LDH falsamente se eleven. Tan sólo la cantidad de 0,27 g/l de hemoglobina libre en plasma resulta en un aumento en los niveles de más de 20%, éstos equivalen a un grado de una hemólisis invisible⁴⁶. La hemólisis provocada en la fase preanalítica particularmente los problemas derivados de la recolección de muestras difíciles o con mucha manipulación, así como una exposición prolongada del suero con el coágulo derivada de una centrifugación tardía e inadecuada separación por mala formación de una barrera separadora, con frecuencia ponen en peligro la integridad de los glóbulos, provocando fugas de los componentes intracelulares y la producción de interferencias significativas biológicas y analíticas^{3,6,7,8,9,12,13,14,45}. Por ende, el momento de la centrifugación de muestras para determinar LDH deben de

centrifugarse permitiendo una formación completa del coágulo, pero con el tiempo más corto de contacto del suero con el coágulo, para de esta forma disminuir la probabilidad de un error en la medición en los niveles de este analito resultando en una cifra espuria en sus niveles.

- *Implicaciones de la cuantificación de creatinina.*

La creatinina es un catabolito de la creatina. La creatinina se sintetiza en el hígado, páncreas, y riñón a partir de arginina, glicina y metionina. A través de la sangre llega a corazón, cerebro u otros órganos que requieren grandes cantidades de energía de utilización rápida. Se convierte a fosfocreatina y funciona como almacenamiento energético. En los músculos es abundante y su producción es proporcional a la masa corporal, otras variantes son el género, edad y grupo étnico. La creatinina al entrar a la circulación es transporta en forma libre en plasma hacia el riñón, donde se elimina por el filtrado glomerular. El método clásico de medición es por la técnica de Jaffe, en el que la creatinina reacciona con el ácido pícrico en un medio alcalino, para producir un color rojo-anaranjado que se evalúa por espectrometría⁴³. Este método tiene interferencias con los analitos de glucosa, proteínas, fructosa, ácido ascórbico, cuerpos cetónicos, ácido pirúvico, bilirrubinas, guanidina y antibióticos como cefalosporinas⁴⁶, todos estos también son conocidos como psuedocreatininas¹⁹. Por ejemplo, el metabolismo eritrocitario (consumo de glucosa) produce un aumento de piruvato derivando en una cifra de creatinina falsamente alta¹⁹, otro ejemplo; son las altas concentraciones de bilirrubina pueden interferir con el método de Jaffe, debido a que la absorbancia del ensayo es cerca del pico de bilirrubina absorbancia. El ensayo de Jaffe sistemático es muy alcalino haciendo que la bilirrubina se oxide a biliverdina durante el período de ensayo y causa una disminución de la absorbancia que es proporcional a la concentración de bilirrubina⁴³. También la reacción puede ser influenciada por la lipemia y/o la hemólisis que aumenta la creatinina sérica falsamente, esto, derivado de un retraso en su procesamiento^{10,11,12,46}. Por consecuencia el retraso en el procesamiento de la muestra puede conducir a incrementos significativos en la creatinina medida y la clasificación errónea de la ERC^{48,49}.

- *Implicaciones de la cuantificación de fósforo*

El fósforo es un ion presente intracelularmente, fisiológicamente muy relacionado con el calcio. En sangre existen fósforos inorgánicos y orgánicos; de manera general, su concentración se determina sobre los inorgánicos. Puede estar libre o unido a proteínas. Sus niveles presentan una gran variabilidad interindividual e intraindividual, con amplias variaciones asociadas con la edad, género, masa muscular y distintos momentos fisiológicos. Presenta un valor para el apoyo diagnóstico y pronóstico en enfermedades como insuficiencia renal crónica y aguda, hipoparatiroidismo, pseudohipoparatiroidismo, acromegalia, alteraciones en el equilibrio ácido-base, en la lisis celular, monitoreo de tratamiento con insulina, en alteraciones renales como en afecciones del túbulo renal, síndrome de Fanconi, entre otras enfermedades^{43,46}.

El fósforo es un analito en el que se ha podido ver que presenta una gran variabilidad en base a la temperatura y al tiempo de contacto con el coágulo^{1,2,3,9,10,11,12,18,19}. De igual forma es sensible a la interferencia de hemólisis^{46,50}. Por lo que la centrifugación inmediata podría evitar este efecto en este analito.

- *Centrifugación inmediata en tubo con gel separador*

La separación inmediata del suero del coágulo se puede obtener mediante la utilización de tubos con gel separador. En éstos tubos, durante la centrifugación, el gel se somete a un cambio temporal en la viscosidad y se aloja entre las células empaquetadas y el suero. Las ventajas de los tubos separadores son la rápida separación del suero de los componentes celulares de la sangre, fácil transporte, la eliminación de la necesidad de alícuotar el suero, y la reducción de la aerosolización de sustancias peligrosas^{14,51}. El suero recogido en tubos con gel separador, al separar rápidamente los componentes celulares, tiene menos influencia en las concentraciones de glucosa obtenidos por este método^{4,21,41}, así como para los demás analitos, evitando la hemólisis por el contacto prolongado del coágulo con el suero^{1,2}. La separación inmediata de la muestra y en algunos casos la refrigeración

de 0 - 4°C de la muestra recolectada en tubos de suero-gel es ampliamente aceptada como un proceso preanalítico estándar antes de la medición de la glucosa, y permite determinar otras analitos usando una sola muestra. Sobre todo, si la muestra no es procesada inmediatamente^{1,2,41}. Se ha señalado que esta situación, la separación inmediata del suero posterior a la formación del coágulo y la refrigeración inmediata de 0 - 4°C raramente son factibles en la práctica clínica diaria³⁶. Sin embargo, estamos convencidos que la variación en el método procesamiento podría tener un importante impacto en las concentraciones de glucosa, AST, ALT, LDH, creatinina y fósforo, en pacientes cuya exactitud del resultado permite al médico tratante tomar una decisión, por lo que obligan al personal médico a tener en mente las discrepancias entre los procesos analíticos pre-existentes con el fin de evaluar los datos de laboratorio con mayor claridad.

JUSTIFICACIÓN

Hoy en día la toma de decisiones médicas se sustenta cada vez en base a un resultado de laboratorio, haciendo que cada vez cobre más importancia el diagnóstico por laboratorio y esto obliga a los laboratorios a implementar medidas para poder ofrecer mayor precisión y exactitud en sus procesos y de esta forma otorgar resultados de calidad. La medición de la concentración de muchos de los analitos en suero pueden ser piedra angular para el diagnóstico y control muchas enfermedades como, por ejemplo; de diabetes mellitus (glucosa), enfermedad renal crónica (creatinina), enfermedad hepática (AST, ALT), como factor pronóstico en enfermedades onco-hematológicas (LDH), alteraciones del metabolismo óseo y de minerales (fósforo), además de fungir como elementos para el monitoreo de muchas otras enfermedades. El retraso en el procesamiento de la muestra puede llevar a aumento o disminución de los valores de un analito analizado en suero, un ejemplo sería hasta la pérdida de hasta un 10% del valor de glucosa mientras se procesa, lo que es inadmisibles para un paciente con intolerancia a los carbohidratos, con hipoglucemia, en pacientes con sospecha de diabetes mellitus, así como respuesta de los niveles de glucosa al tratamiento en pacientes con diabetes mellitus. Esto demanda que los laboratorios de patología clínica deban de obtener en sus procesos y análisis la mayor exactitud y precisión en sus resultados. Por lo que es indispensable la cuantificación más precisa de los más de 35 analitos realizados en el área de bioquímica de nuestro hospital, debido al impacto que estos tienen en la toma de decisiones médicas, administrativas, legales, de salud pública y epidemiológicas en nuestro hospital y su área de influencia.

La centrifugación/análisis inmediato es una práctica que ha sido poco utilizada en la toma y procesamiento de las muestras en la mayoría de los laboratorios de patología clínica públicos en nuestro país. Debido a múltiples factores; desde la mala planeación en infraestructura, ubicación del laboratorio y lejanía de los puestos de toma de muestras, así como el poco conocimiento de factores externos que influyen la determinación de los analitos a estudiar, por parte del personal operativo, poca capacitación, malos hábitos del personal de laboratorio, entre otros

Este estudio nos proporcionará una alternativa viable para reducir el error durante la fase preanalítica disminuyendo el tiempo de contacto del suero con el coágulo, evitando la posibilidad de hemólisis y de interferencias en los valores de los analitos realizados en suero para el área de bioquímica. Habrá que recordar que el objetivo de los laboratorios de patología clínica es realizar mediciones *ex vivo* más cercanas a lo que pasa *in vivo*, reflejando así un trabajo con calidad en los procedimientos, con una mayor certeza en los resultados que se reflejarán en una mejor toma de decisiones por parte del médico solicitante.

También, tomando en cuenta los cambios en la gestión administrativa que sufren los laboratorios clínicos en nuestro instituto en busca de un ahorro económico, esto también serviría como parámetro para demostrar y evaluar en un futuro el control preanalítico realizado por laboratorios externos, al contar con un estudio que contraste los valores obtenidos en nuestro laboratorio de forma idónea contra los valores obtenidos por el laboratorio externo de los analitos más sensibles de variación, que indicarían un retraso en el procesamiento y/o medición de las muestras.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe diferencia cuando se realiza la comparación de la técnica de centrifugación inmediata contra la técnica habitual en la determinación de los valores de seis analitos de bioquímica en pacientes de la consulta externa del HE CMN “La Raza”?

HIPÓTESIS

La técnica de centrifugación/análisis inmediato comparado con la técnica habitual de procesamiento de muestras sanguíneas para bioquímica, permite obtener valores más precisos de glucosa, creatinina, AST, ALT, LDH y fósforo, en pacientes de la consulta externa en el Hospital Especialidades del Centro Médico Nacional “La Raza”.

OBJETIVO

Objetivo general

Comparar los valores obtenidos séricos de glucosa, creatinina, AST, ALT, LDH y fósforo, por la técnica de centrifugación/análisis inmediato, contra la técnica de rutina, en pacientes de la consulta externa del Hospital Especialidades del Centro Médico Nacional “La Raza”.

Objetivos específicos

- Determinar el promedio de consumo de glucosa con la técnica habitual en los pacientes de consulta externa del HE CMN “La Raza”.
- Determinar el promedio de variación de creatinina con la técnica habitual en los pacientes de consulta externa del HE CMN “La Raza”.
- Determinar el promedio de variación de AST con la técnica habitual en los pacientes de consulta externa del HE CMN “La Raza”.
- Determinar el promedio de variación de ALT con la técnica habitual en los pacientes de consulta externa del HE CMN “La Raza”.
- Determinar el promedio de variación de LDH con la técnica habitual en los pacientes de consulta externa del HE CMN “La Raza”.
- Determinar el promedio de variación de fósforo con la técnica habitual en los pacientes de consulta externa del HE CMN “La Raza”.
- Determinar el porcentaje de pacientes que probablemente no se diagnostican con intolerancia a los carbohidratos debido al consumo de glucosa *ex vivo*.
- Determinar el porcentaje de pacientes que probablemente no se diagnostican con daño renal por la variabilidad de la creatinina *ex vivo* por medio de la ecuación MDRD-4 (IDMS).

MATERIAL Y METODOS

Universo de trabajo

Muestras de suero obtenidas por duplicado de pacientes que acuden a la toma de consulta externa del HE CMN “La Raza” para la realización de pruebas de glucosa, creatinina, AST, ALT, LDH y fósforo, las cuales se analizarán en el área de bioquímica del laboratorio central del HE CMN “La Raza”

Muestreo

Muestreo probabilístico aleatorio simple. Se obtuvieron muestras de sangre de pacientes que acudieron a toma de muestra al laboratorio de patología clínica del HE CMN “La Raza” para la realización de estudios de laboratorio del 27 de junio al 22 de julio del 2016.

DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio prospectivo, transversal, comparativo

Cálculo del tamaño de la muestra

El cálculo de la muestra por cada analito se realizó en base a la cantidad de determinaciones realizadas en el laboratorio de patología clínica del HE CMN La Raza en el año 2015, siendo para glucosa de 118,000, creatinina 130,213, AST 33,215, ALT 67.557, LDH 60,150 y para de fósforo 42,500. Utilizando la siguiente formula⁵².

$$n = \frac{N Z^2 S^2}{d^2 (N-1) + Z^2 S^2}$$

Donde:

n = tamaño de la muestra

N = tamaño de la población

Z = valor de Z crítico, calculado en las tablas del área de la curva normal.

Llamado también nivel de confianza = 1.96

S² = varianza de la población en estudio = 0.5

d = nivel de precisión absoluta = 0.05

Glucosa:

N = 118,000

$$n = \frac{118,000 * 1.96^2 * 0.5^2}{0.05^2 (118,000 - 1) + 1.96^2 * 0.5^2} \quad n = \frac{113,327.2}{296} \quad n = 383$$

El tamaño de las muestras se ajustó a 460 determinaciones incluyendo el 20% de pérdidas.

Creatinina:

N = 130,213

$$n = \frac{130,213 * 1.96^2 * 0.5^2}{0.05^2 (130,213 - 1) + 1.96^2 * 0.5^2} \quad n = \frac{125,057}{326} \quad n = 384$$

El tamaño de las muestras se ajustó a 461 determinaciones incluyendo el 20% de pérdidas.

AST:

N = 33,215

$$n = \frac{33,215 * 1.96^2 * 0.5^2}{0.05^2 (33,215 - 1) + 1.96^2 * 0.5^2} \quad n = \frac{31,900}{84} \quad n = 380$$

El tamaño de las muestras se ajustó a 460 determinaciones incluyendo el 20% de pérdidas.

ALT:

N = 67,557

$$n = \frac{67,557 * 1.96^2 * 0.5^2}{0.05^2 (67,557 - 1) + 1.96^2 * 0.5^2} \quad n = \frac{65,000}{84} \quad n = 381$$

El tamaño de las muestras se ajustó a 460 determinaciones incluyendo el 20% de pérdidas.

LDH:

N= 60,150

$$n = \frac{67,557 * 1.96^2 * 0.5^2}{0.05^2 (67,557 - 1) + 1.96^2 * 0.5^2} \quad n = \frac{57,768}{151.4} \quad n = 381$$

El tamaño de las muestras se ajustó a 460 determinaciones incluyendo el 20% de pérdidas.

Fósforo:

N = 42,500

$$n = \frac{42,500 * 1.96^2 * 0.5^2}{0.05^2 (42,500 - 1) + 1.96^2 * 0.5^2} \quad n = \frac{40,836}{107} \quad n = 381$$

El tamaño de las muestras se ajustó a 460 determinaciones incluyendo el 20% de pérdidas.

IDENTIFICACIÓN Y DEFINICIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición Operativa	Tipo de Variable Categoría	Unidad de medición
DEPENDIENTE			
Concentración de glucosa en tubo con gel-separador.	Resultado de estudio enzimático de cuantificación de glucosa centrifugado dentro de la primera hora después de la recolección de la muestra.	Cuantitativa discreta	mg/dL

Concentración de glucosa en tubo de rutina	Resultado de estudio enzimático de cuantificación de glucosa centrifugada después de más de 1 hora después de la recolección de la muestra.	Cuantitativa discreta	mg/dL
Concentración de creatinina en tubo con gel-separador.	Resultado de estudio colorimétrico de cuantificación de creatinina centrifugado dentro de la primera hora después de la recolección de la muestra.	Cuantitativa discreta	mg/dL
Concentración de creatinina en tubo de rutina	Resultado de estudio colorimétrico de cuantificación de creatinina centrifugada después de más de 1 hora después de la recolección de la muestra.	Cuantitativa discreta	mg/dL
Concentración de AST en tubo con gel-separador.	Resultado de estudio cinético de cuantificación de AST centrifugado dentro de la primera hora después de la recolección de la muestra.	Cuantitativa discreta	U/L
Concentración de AST en tubo de rutina	Resultado de estudio cinético de cuantificación de AST centrifugada después de más de 1 hora después de la recolección de la muestra.	Cuantitativa discreta	U/L
Concentración de ALT en tubo con gel-separador.	Resultado de estudio cinético de cuantificación de AST centrifugado dentro de la	Cuantitativa discreta	U/L

	primera hora después de la recolección de la muestra.		
Concentración de ALT en tubo de rutina	Resultado de estudio cinético de cuantificación de AST centrifugada después de más de 1 hora después de la recolección de la muestra.	Cuantitativa discreta	U/L
Concentración de LDH en tubo con gel-separador.	Resultado de estudio de la tasa de acuerdo con las recomendaciones de la D.G.K.C. para la cuantificación de LDH centrifugado dentro de la primera hora después de la recolección de la muestra.	Cuantitativa discreta	U/L
Concentración de LDH en tubo de rutina	Resultado de estudio de la tasa de acuerdo con las recomendaciones de la D.G.K.C. para la cuantificación de LDH centrifugado después de más de 1 hora después de la recolección de la muestra.	Cuantitativa discreta	U/L
Concentración de fósforo en tubo con gel-separador.	Resultado de estudio por fosfomolibdato/UV para cuantificación de fósforo centrifugado dentro de la primera hora después de la recolección de la muestra.	Cuantitativa discreta	mEq/dL
Concentración de fósforo en tubo de rutina	Resultado de estudio por fosfomolibdato/UV para centrifugado después de más	Cuantitativa discreta	mEq/dL

	de 1 hora después de la recolección de la muestra.		
INDEPENDIENTE			
Paciente de consulta externa	Paciente que acude a solicitar estudios de laboratorio por orden del médico tratante	Cuantitativa continua	1, 2, 3... 460
Tiempo	Magnitud física que permite ordenar la secuencia de los sucesos, estableciendo un pasado, un presente y un futuro, y cuya unidad en el sistema internacional es el segundo	Cuantitativa continua	Minutos
<i>Independientes secundarias</i>			
Género	Condición orgánica, masculina o femenina a la que se identifica de nacimiento al paciente	Cualitativa dicotómica	Femenino o masculino
Edad	Años cumplidos referidos por el paciente	Cuantitativa continua	años

CRITERIOS DE SELECCIÓN

I. Criterios de inclusión

- Pacientes de consulta externa sin importar el diagnóstico, a los que se les solicite la determinación de niveles de glucosa, creatinina, AST, ALT, LDH y fósforo, que acudan a toma de muestra al laboratorio de patología clínica del HE CMN La Raza y se obtenga la muestra de forma fácil, directa y sin complicaciones en tubo con gel-separador.
- Muestras centrifugadas dentro de los 30 minutos posteriores, pero no más de 60 minutos después de la extracción

II. Criterios de no inclusión

- Pacientes de consulta externa que acudan a toma de muestra al laboratorio de patología clínica del HE CMN La Raza y que al realizar la toma de muestra requieran doble punción u obtención por goteo.
- Muestras inadecuadas con más de 1 hora de centrifugar y/o analizar
- Muestras con mala separación del suero con el coágulo
- Muestras lipémicas
- Muestras hemolizadas

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

En la sala de espera del laboratorio del HECM “La Raza”, mientras los pacientes se encuentran en espera de la asignación de cubículo para toma de muestra, se invitará a los pacientes a participar y se explicará la metodología y en caso de aceptar participar se otorgará la carta de consentimiento informado (anexo 1) para su lectura y su firma autógrafa. Habiendo obtenido la carta de consentimiento informado, al paciente se le asignará un cubículo donde el flebotomista lo llamará y recolectará el consentimiento informado. En base al manual de procedimientos del Laboratorio de Patología Clínica del HECMN “La Raza” en su apartado de obtención de muestras sanguíneas (anexo 2) tomarán los tubos necesarios para realizar las pruebas solicitadas por el médico tratante y en último lugar obtendrá un tubo tapón color oro con gel-separador y activador de la coagulación marca BD Vacutainer® SST™ de 5 ml de capacidad, lote: 5336641, caducidad 2016-11, posteriormente se homogenizará suavemente en 5 ocasiones como lo indica el fabricante (anexo 2). De esta forma se obtendrán de un mismo paciente dos muestras para medición de glucosa, de las cuales cada una de ellas se procesarán y analizarán en tiempos diferentes.

Se deberá de realizar en la primera punción por medio del sistema BD Vacutainer® para limitar las interferencias como contaminación y hemolisis.

Realizada la punción y obtenidos todos los tubos solicitados, más el tubo dorado extra, los tubos se mantendrán en posición vertical a temperatura ambiente (22°C - 25°C). Posterior a la formación del coágulo dentro de los primeros 30 minutos posterior a la extracción, se procederá a centrifugar, esto sin exceder los 60 minutos

después de la extracción. En una centrifuga marca MPW MED. INSTRUMENTS; MODELO MPW-35, por 15 minutos a 1,000 – 1,500 RFC (g), como lo indica el fabricante. Separado el paquete globular del suero se procesará en el equipo ARCHITECplus c800.

El sistema ARCHITECplus c800; Abbott Laboratories, Japón: es un sistema abierto, totalmente automatizado para el análisis de química sanguínea de laboratorios. El sistema consta de 3 componentes, el primero es el módulo c8000 es cuál es el módulo de diagnóstico, es donde se realiza el procesamiento de muestras usando los métodos de potenciómetro y fotométrico. Este módulo es capaz de llevar a cabo 1200 pruebas por hora, utilizando para ello los 56 a 65 reactivos almacenados en el sistema en dos centros de suministro de reactivos de control de temperatura. El segundo componente consta de un centro de manejo de muestreo multidimensional que es el módulo de transporte que presenta las muestras al módulo de proceso para el análisis y reproceso. Este sistema de transporte permite cargar calibradores, controles y muestras de pacientes y llevarlos al módulo de procesamiento del c8000. El tercer componente es el centro controlador del sistema; que es el sistema de computación que proporciona al usuario el mando del módulo de procesamiento y los componentes relacionados a través de una interfaz centralizada, permite configurar el sistema, ingresar la identificación de pacientes, controles y calibradores, revisar resultados, controlar el módulo de proceso y el módulo de muestras, realizar diagnóstico del sistema, transferir resultados a una computadora central. El sistema es eficiente en detección de coágulos, utilizando la tecnología de presión diferencial asegurando precisión en el muestreo. Cuenta con tecnología de pipeteo y lavado que posibilitan que se logre un arrastre menor a 0.1 ppm, esto reduce los resultados irregulares. Logra una alta eficiencia sin contaminación por arrastre por medio de la tecnología SmartWash™, patentada por Abbott para dar confianza a los resultados, es un proceso de lavado de 8 paso con verificación automática de la cubeta para asegurar la calidad de las misma antes de cada prueba. Cuenta con un sistema HIL que detecta hemolisis, ictericia y lipemia lo que permite identificar muestras con resultados inexactos causados por estas interferencias de la muestra.

- Se utilizarán tres kits de reactivo para glucosa; Abbott Laboratories, Abbott Park, IL 60064 EEUU, con número de lote 48090UQ08, con fecha de caducidad del 31-08-2016; cada uno con una capacidad de para 333 pruebas. Éstos presentan una estabilidad de hasta 30 días dentro del equipo. El ensayo de glucosa es usado para la cuantificación de glucosa en humanos en suero, plasma, orina o líquido cerebroespinal. Utilizando la metodología de Hexokinasa/glucosa-6-fosfato. El principio se basa en que la glucosa de la muestra es fosforilada por la hexokinasa (HK) en presencia de trifosfato de adenosina (ATP) y iones de magnesio, para producir glucosa-6-fosfato y adenosin difosfato (ADP). La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa oxida específicamente la glucosa-6-fosfato a 6-fosfogluconato con la reducción simultánea de nicotinamida adenin dinucleotido (NAD) a nicotinamida adenin dinucleotido reducido (NADH). Un micromol de NADH es producido por cada micromol de glucosa consumido. El NADH produce absorción de luz a 340 nm y puede ser detectado espectrofotométricamente como un incremento en la absorbancia.
- Para la medición de creatinina se usarán dos kits de reactivo; Abbott Laboratories, Abbott Park, IL 60064 EEUU, con número de lote 45209UN15, con fecha de caducidad del 13-10-2016; cada uno con una capacidad de para 422 pruebas. Éstos presentan una estabilidad hasta la fecha de caducidad dentro del equipo. La metodología utilizada es cinética alcalina picrato. El principio se basa, que un pH alcalino, la creatinina en la muestra reacciona con picrato para formar un complejo de creatinina-picrato. La tasa de aumento en la absorbancia a 500 nm debido a la formación de este complejo es directamente proporcional a la concentración de creatinina en la muestra
- AST, para su medición, se usarán dos kits de reactivo; Abbott Laboratories, Abbott Park, IL 60064 EEUU, con número de lote 98547UN15, con fecha de caducidad del 29-07-2016; cada uno con una capacidad de para 360 pruebas. Con una estabilidad de 30 días dentro del equipo. La metodología utilizada es NADH sin piridoxal-5'-fósfato. LA AST presente en la muestra, cataliza la transferencia del grupo amino de L-aspartato a α -cetoglutarato,

formando oxalacetato y L-glutamato. El oxaloacetato en presencia de NADH y la malato deshidrogenasa (MDH) se reduce a L-malato. En esta reacción, el NADH se oxida a NAD. La reacción se mide mediante la medición de la tasa de disminución de la absorbancia a 340 nm debido a la oxidación de NADH a NAD.

- ALT, para su medición, se usarán 2 kits de reactivo; Abbott Laboratories, Abbott Park, IL 60064 EEUU, con número de lote 4782UQ06, con fecha de caducidad del 08-12-2016; cada uno con una capacidad de para 360 pruebas. Éstos presentan una estabilidad de 27 días dentro del equipo. La metodología utilizada es NADH sin piridoxal-5'-fósforo. La ALT presente en la muestra, cataliza la transferencia del grupo amino de L-alanina a α -cetoglutarato, formando piruvato y L-glutamato. El piruvato en presencia de NADH y lactato deshidrogenasa (LD) se reduce a L-lactato. En esta reacción NADH se oxida a NAD. La reacción se mide mediante la medición de la tasa de decremento de la absorbancia a 340 nm debido a la oxidación de NADH a NAD.
- Para la medición de LDH se usarán 2 kits de reactivo; Abbott Laboratories, Abbott Park, IL 60064 EEUU, con número de lote 37717UN15, con fecha de caducidad del 26-08-2016; cada uno con una capacidad de para 260 pruebas. Éstos presentan una estabilidad de 30 días dentro del equipo. La metodología utilizada es recomendada por la federación internacional de química clínica y medicina de laboratorio (IFCC), de reacción directa, de lactato a piruvato. El principio se basa, en que el lactato deshidrogenasa es una enzima de transferencia de hidrógenos que cataliza la oxidación de L-lactato a piruvato con la medicación de NAD⁺ como un aceptor de hidrógenos.



- El fósforo para su medición, se usará 1 kit de reactivo; Abbott Laboratories, Abbott Park, IL 60064 EEUU, con número de lote 45212UN15, con fecha de caducidad del 17-07-2016; con una capacidad de 1400 pruebas. Éstos

presentan una estabilidad de 65 días dentro del equipo. La metodología utilizada es fosfomolibdato. El fosfato inorgánico reacciona con molibdato de amonio para formar un complejo de heteropoliácido. El uso de un surfactante elimina la necesidad de preparar un filtrado libre de proteínas. La absorbancia a 340 nm es directamente proporcional al nivel de fósforo inorgánico en la muestra. Muestras blanco se deben ejecutar para corregir cualquier absorbancia no específica en la muestra.

Utilizando el método de ensayo fotométrico, que consiste en la medición de la cantidad de luz absorbida por la muestra al pasar un rayo de luz a través de ella, así como la medición de la intensidad de la luz que alcanza el detector. El sistema óptico incorporado al módulo de procesamiento es un sistema fotométrico que dirige y alinea la luz procedente de una lámpara a través del baño de incubación y la cubeta de reacción y finalmente hacia la unidad óptica, el sistema enfoca la luz y mide simultáneamente la intensidad de 16 longitudes de onda diferentes (340 a 840 nm).

La edad y sexo se obtendrán del consentimiento informado y los resultados obtenidos de la primera medición de glucosa se registrarán en la hoja de recolección de datos 1.

Para las muestras habituales se centrifugarán hasta que el flebotomista termine todas sus tomas de sangre del día, así mismo; organice los tubos recolectados y solitudes y las entregue al área correspondiente para centrifugar y posteriormente para someter a su análisis, el cual se llevará a cabo por la misma metodología. Los resultados obtenidos se registrarán en la hoja de recolección de datos 1. Las diferencias de ambas mediciones de glucosa se reportarán en la hoja de resultados 2, junto con la edad y sexo.

Metodología: Algoritmo de trabajo



ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizará un análisis descriptivo univariado, estimando frecuencias simples, medidas de tendencia central y de dispersión.

Para la variable cualitativa se analizará mediante la prueba Chi-cuadrada.

Para las variables cuantitativas, se determinará la distribución de los datos de la muestra mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov, si la distribución es normal se analizarán por medio de la prueba t de student, en caso de no ser normal se analizarán mediante la prueba de U de Mann Whitney, obteniendo el valor de p.

Programa estadístico a utilizar SPSS versión 23.

ASPECTOS BIOÉTICOS

- I. Este protocolo estará regido por los principios especificados en la Declaración de Ginebra con su corrección más reciente en la 46^a Asamblea General de la Asociación Médica Mundial, en Estocolmo, Suecia, realizada en septiembre del 2004 y la Declaración de Helsinki enmendada en la 52^a Asamblea General, Edimburgo, Escocia en octubre del 2000, con nota de clarificación del párrafo 30 realizada por la Asamblea General de la Asociación Médica Mundial realizada en Tokio del 2004.

La realización del presente estudio se encontrará dentro del Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación en salud, título 2^{do}, capítulo 1 (artículo 17) clasificado como:

- II. Riesgo igual al mínimo.

RECURSOS Y FACTIBILIDAD

Para la realización de esta tesis de investigación se utilizaron insumos y consumibles propios del hospital para llevarse a término. Los pacientes accedieron a la toma de un tubo adicional a los necesarios para la realización de los estudios adicionales previo consentimiento informado. El material para la muestra adicional fue aportado por la jefatura del laboratorio central del HE CMN “La Raza”

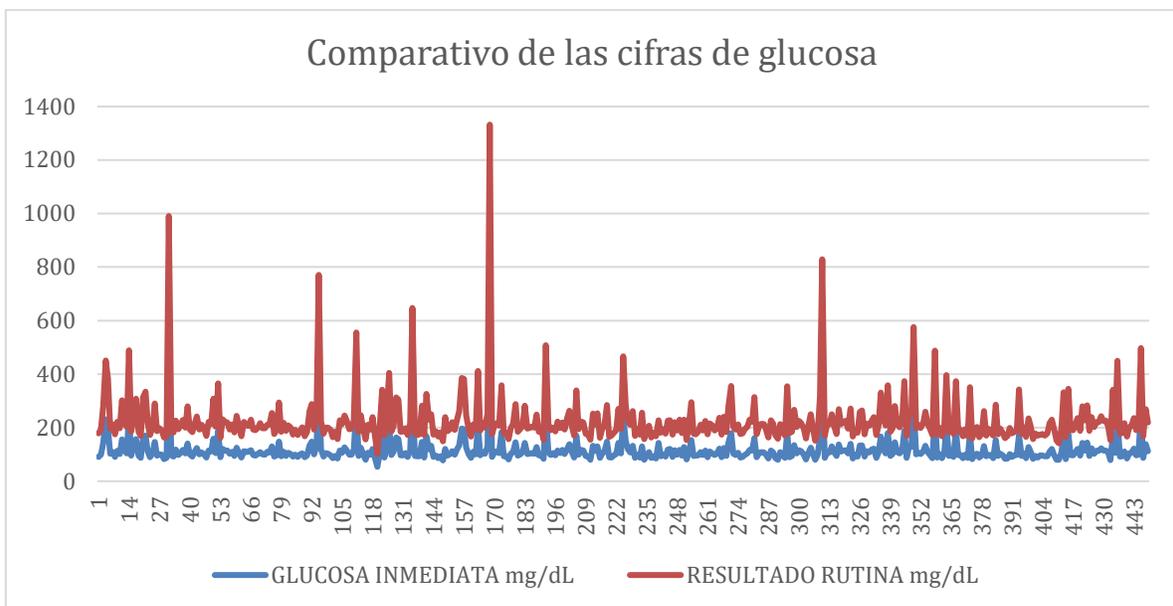
Se cuenta con la infraestructura y el personal para la obtención de las muestras en el área de toma de la consulta externa del HE CMN “La Raza”.

Por lo que es viable realizar el estudio dado que se cuenta con los recursos materiales y humanos lo cual no presenta un gasto extra para la institución.

RESULTADOS

De las 460 muestras, solo 449 fueron incluidas en el estudio, ya sea que las 11 muestras descartadas no presentaban segunda medición de glucosa, datos incomprensibles o datos incompletos.

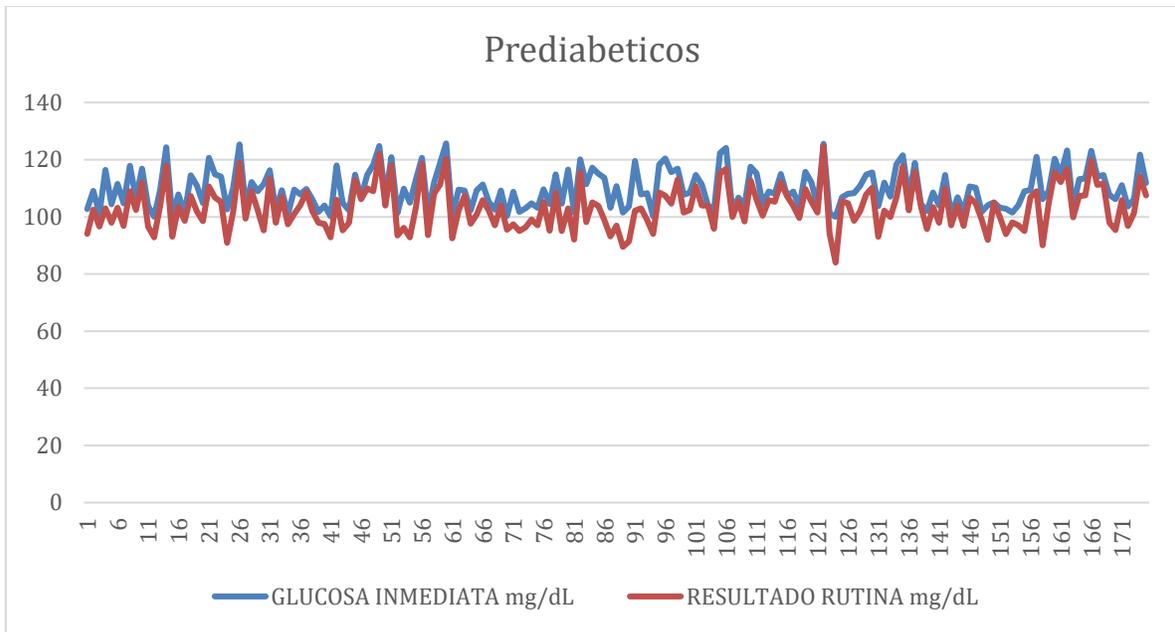
Se obtuvo una media de concentración de glucosa en el primer tubo que se centrifugo y analizo inmediatamente de 116.9 y en el segundo tubo de rutina de 110. Con una perdida promedio de 6.8 mg/dL



Se pudo obtener en la totalidad de los resultados una disminución de glucosa respecto a la primera medición.

El porcentaje de perdida en menos de una hora representa el 6% del total de la cifra inicial en promedio.

En los rangos de 100 a 125 mg/dL, que es considerado como prediabetes, se obtuvieron 175 pacientes, de los cuales en la segunda medición en el tubo de rutina solo se conservaron en el rango de prediabetes 111. Esto nos arroja una pérdida de 64 pacientes que pasan del rango de prediabetes a un rango normal



No se presentó una significancia estadística el porcentaje de perdida de glucosa con respecto a la edad o sexo de los pacientes.

DISCUSIÓN

En el análisis en las cifras de glucosa se logró determinar que la disminución de tan solo el promedio de la disminución (6.8mg d/L) es estadísticamente significativa. Se ha demostrado que personas con una glucosa plasmática en ayunas entre 87 y 90 mg/dL tiene un riesgo ajustado por edad de desarrollar diabetes que es 1,81 veces mayor que la de una persona con un FPG <82 mg/dL. Por lo tanto, una diferencia tan pequeña como 5 mg/dL casi duplica el riesgo. Riesgo de 3,05 veces mayor cuando glucosa plasmática en ayunas se ubica entre 95 y 99 mg/dl. El resultado obtenido de la diferencia de un máximo de una hora es mayor a 5 mg/dL.

175 pacientes con cifras consideradas dentro de cifras como “prediabetes” (100 – 125 mg/dL) fueron detectados en el primer tubo sometido a centrifugación/análisis inmediato, al análisis con el tubo de rutina solo se encuentran en cifras de “prediabetes” un total de 111. Esto nos proporciona una pérdida de 64 pacientes los cuales no se podrían sospechar como pacientes con prediabetes o intolerancia a los carbohidratos. Es de llamar la atención que el promedio la pérdida de glucosa es mayor al promedio de la totalidad de la muestra (8.15 mg/dL vs 6.8 mg/dL).

CONCLUSIÓN

La fase pre analítica es un componente importante en el proceso de operaciones de un laboratorio, porque existe una diversidad de variables que afectan el resultado de la muestra de sangre u otro fluido corporal analizado de un paciente; desde las variables fisiológicas hasta los procedimientos de la toma de muestra.

En la fase pre analítica pueden diferenciarse dos etapas, una externa y otra dentro del laboratorio. Los errores que se pueden generar tienen distinta significación y su medida es difícil ya que algunos de ellos se ponen de manifiesto en la fase analítica y otros no se evidenciarán. Además, la fase pre analítica se divide en varias partes, iniciando con la solicitud del examen por el médico, seguido de la colección de la muestra, el transporte de la muestra al laboratorio, la recepción de la muestra por el personal del laboratorio, la preparación de la muestra para el examen, hasta el transporte de la muestra a la sección correcta del laboratorio.

Como se muestra en algunos estudios la frecuencia de errores en la etapa pre analítica no es despreciable; Plebani y col, concluyen que los errores en la etapa pre analítica representan entre 46 a 68,2% del total de errores en el proceso del laboratorio, y un estudio realizado en 7 países de Latinoamérica solo el 3% realizó correctamente los procedimientos de venopunción según el procedimiento estandarizado de colección de sangre por venopunción H03-A6 del CLSI.

ANEXOS

Anexo 1

FORMATO DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN									
Consentimiento informado para participar en protocolo de estudio titulado: <u>COMPARACIÓN DE LA TÉCNICA DE CENTRIFUGACIÓN INMEDIATA CONTRA LA HABITUAL EN LA DETERMINACIÓN DE SEIS ANALITOS DE BIOQUÍMICA EN PACIENTES DE LA CONSULTA EXTERNA DEL HE CMN "LA RAZA"</u>									
NOMBRE: _____					CIUDAD DE MÉXICO A: _____				
NUMERO DE SEGURIDAD SOCIAL: _____					SEXO: _____		EDAD: _____		
Procedimiento explicado y explicación del mismo: TOMA SANGUÍNEA.									
Beneficio: DIAGNOSTICO DE PADECIMIENTO OPORTUNO Y/O SEGUIMIENTO AL TRATAMIENTO									
Riesgos y complicaciones: MINIMOS (mareo, vomito, o hematoma en la zona de punción), SI SE PRESENTA ALGUNA CONTAMOS CON PERSONAL CAPACITADO PARA ATENDER LA URGENCIA, EL MATERIAL ES NUEVO, ESTERIL Y DESECHABLE									
Yo _____ De _____ años de edad. Por medio de la presente hago constar que ACEPTO sin obligación y por decisión propia participar en el estudio de investigación cuyo título es "COMPARACIÓN DE LA TÉCNICA DE CENTRIFUGACIÓN INMEDIATA CONTRA LA HABITUAL EN LA DETERMINACIÓN DE SEIS ANALITOS DE BIOQUÍMICA EN PACIENTES DE LA CONSULTA EXTERNA DEL HE CMN "LA RAZA". Registrado ante el comité de investigación en salud local. El objetivo de este estudio es comparar la técnica de centrifugación y análisis inmediato con la técnica de rutina, para la determinación de glucosa sérica en pacientes de la consulta externa del Hospital Especialidades del Centro Médico Nacional "La Raza". Refiero que se me ha indicado detalladamente que mi participación consta en la donación de un tubo con tapón color oro con gel-separador para suero de 5ml, el cual es adicional a los necesario para realizar las pruebas indicadas por mi médico solicitante, esto con la única finalidad de CUANTIFICAR GLUCOSA, CREATININA, ASPARTATO AMINOTRANSFERASA, ALANINO AMINOTRANSFERASA, LACTATO DESHIDROGENASA Y FÓSFORO EN SUERO. Mi participación en este estudio no modifica mi atención médica dentro del Instituto Mexicano del Seguro Social. Declaro que se me ha informado la naturaleza y propósito, así como los riesgos y beneficios inherentes a la participación en el protocolo y en caso de alguna duda o aclaración acerca del proceso el investigador principal me la resolverá.									
El investigador deberá brindarme información oportuna sobre cualquier procedimiento adecuado que pudiera ser de beneficio para mi persona y se me ofrecerá. Conozco que poseo el derecho de retirarme del estudio en el momento que desee. Entiendo que TODOS LOS DATOS PERSONALES que otorgue serán de manejo Estrictamente Confidencial y que serán recopilados en una base de datos para su análisis estadístico que sólo conocerá el investigador. Así mismo doy el consentimiento para realizar la atención de contingencias y urgencias derivadas del acto autorizado con base al principio de libertad									
FIRMA DEL PARTICIPANTE O SU REPRESENTANTE LEGAL: _____									
NOMBRE Y FIRMA DEL QUE OBTIENE LA CARTA DE CONSENTIMIENTO (Nombre y firma): _____									
NOMBRE, DIRECCIÓN, RELACIÓN CON EL PARTICIPANTE Y FIRMA DEL TESTIGO: _____									
NOMBRE, DIRECCIÓN, RELACIÓN CON EL PARTICIPANTE Y FIRMA DEL TESTIGO: _____									
NOMBRE Y FIRMA DEL FLEBOTOMISTA: _____									
NOMBRE Y FIRMA DEL INVESTIGADOR PRINCIPAL: _____									
Si tiene alguna pregunta sobre el estudio puede realizarlas al _____ al telefono 57245900 ext. _____.									
Dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de ética e investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4º piso bloque "B" de la unidad de congresos, colonia Doctores. México D.F. CP 06720. Teléfono: (55) 56276900 ext. 21230, correo electrónico: comision.etica@imss.gob.mx .									
REFERENCIA: LEY GENERAL DE SALUD cap IV, Art 80, 81, 82 y 83. NOM-007-SSA3-2011									

Anexo 2

TOMA DE MUESTRAS SANGUÍNEAS CON SISTEMA DE VACÍO (BD VACUTAINER®)

Material:

- Agujas BD Vacutainer® 21G, nuevas y desechables
- Soporte BD Vacutainer® (Holder)
- Tubos BD Vacutainer® Ver tabla 1.
- Bata de laboratorio
- 1 par de guantes de látex desechables
- Lentes de protección
- Cubrebocas
- Ligadura
- Torundas con alcohol
- Contenedor de plástico de color rojo, que cumpla las especificaciones de la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.

El paciente:

- Al llegar al laboratorio, se presentará en recepción para entregar las solicitudes junto con las etiquetas que se le entregaron al momento de solicitar su cita.

Control de laboratorio:

- Las solicitudes y etiquetas se pasarán al control de laboratorio, donde el químico encargado de esta área verifica la identidad en la solicitud y la concordancia con los datos de las etiquetas.
- Realizada la identificación, las solicitudes y etiquetas se distribuirán a los flebotomistas en el cubículo asignado para la de toma de muestra.

Flebotomista:

- Se colocará su equipo de protección que consta de bata, guantes de látex, cubrebocas y lentes de protección.
- Llamará al paciente que se encuentra en la sala de espera, por el nombre completo escrito en la solicitud.
- Dentro del cubículo corroborará que la identidad del paciente coincida con la solicitud y las etiquetas de laboratorio.
- Explicará el procedimiento a realizar, así como los estudios solicitados y la cantidad de tubos a extraer
- Solicitará al paciente que se acomode y siente, se descubra el brazo para la punción y lo coloque en él apoya brazos para toma de muestra.
- Se usará para cada punción aguja BD Vacutainer® nuevas y desechables.
- Aplicará un torniquete para facilitar la localización de la vena apropiada para la venopunción aproximadamente a 4cm del sitio de punción.
- Localizada la vena se desinfectará el área con una torunda con alcohol. Se dejará secar de forma natural. No soplando o haciendo aire.
- Realizará la punción con el sistema de aguja y soporte BD Vacutainer® (Holder), teniendo cuidado de colocar el bisel de la aguja hacia arriba.
- Una vez que se está seguro de estar en vena, con una mano se sostendrá el Holder durante todo el procedimiento, con la otra mano se introducirá el primer tubo de recolección de muestra y se soltará el torniquete. Al llenado del tubo se extraerá e introducirá el siguiente y de inmediato se homogenizará el tubo extraído y así sucesivamente hasta recolectar los tubos necesarios.
- Terminado el llenado del último tubo necesario para los exámenes solicitados, éste se extraerá y homogenizará. Seguido de la extracción de la aguja en un solo movimiento e inmediatamente se hará presión sobre el sitio de punción con una torunda con alcohol.
- Se desprenderá la aguja del Holder y se desechará en el recipiente rojo.
- Se solicitará que el paciente flexione su antebrazo por 10 minutos.

- Las etiquetas se colocarán de forma vertical teniendo cuidado de pegarlas sobre el membrete del tubo, de tal forma que quede una “ventana” donde sea posible observar las características del contenido del tubo sin necesidad de destapar el tubo.
- Los tubos con sangre recolectada se colocarán en orden en una gradilla en forma vertical.
- Abrá terminado el proceso de toma sanguínea al paciente y se repetirá el mismo procedimiento para el siguiente paciente.
- Al término de la toma sanguínea de todos los pacientes asignados, la gradilla con muestras, así como las solicitudes se llevarán al área de centrifugado.

NOTA: El orden y homogenización, se realizará en base a las indicaciones del fabricante. Son las siguientes:

Tabla 3. Tipos de tubo y su modo correcto uso			
CONTENIDO DEL TUBO	COLOR DE TAPÓN	ÁREA DE USO	MEZCLADO
Tubo con gel separador	Oro	Química clínica	5 veces
Sin anticoagulante con y sin silicón	Rojo	Química clínica, banco de sangre, serología.	5 veces
Citrato de sodio	Azul	Tiempos de coagulación, fibrinógeno, agregación plaquetaria	3 a 4 veces
EDTA	Morado	Hematología, banco de sangre	8 a 10 veces
Heparina de sodio	Verde	Química clínica (urgencias), hematología (fragilidad osmótica)	8 a 10 veces

HOJA DE RECOLECCIÓN

Hoja de recolección 1.

ANEXO 1: HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS																	
HOJA DE TRABAJO DEL DÍA:				RESULTADOS DEL 1ER TUBOS:							RESULTADOS DEL 2DO TUBO:						
NUM	FOLIO INTERNO	EDAD	SEXO M o F	TUBO	GLUCOSA mg/dL	CREATININA mg/dL	AST U/L	ALT U/L	LDH U/L	FÓSFORO mEq/mL	TUBO	GLUCOSA mg/dL	CREATININA mg/dL	AST U/L	ALT U/L	LDH U/L	FÓSFORO mEq/mL
1																	
2																	
3																	
4																	
5																	
6																	
7																	
8																	
9																	
10																	
11																	
12																	
13																	
14																	

Hoja de recolección 2

ANEXO 2: HOJA DE CONCENTRACION DE DIFERENCIAS OBTENIDAS									
NUM	EDAD	SEXO M o F	FOLIO INTERNO	GLUCOSA mg/dL	CREATININA mg/dL	AST U/L	ALT U/L	LDH U/L	FÓSFORO mEq/mL
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Narayanan S. The preanalytic phase. *Am J Clin Pathol* 2000;113:429-452
2. Zhang DJ, Elswick RK, Greg Miller W, Bailey J. Effect of serum-clot contact time on clinical chemistry laboratory results. *Clin Chem* 1998;44(6):1325-133
3. Lippi G, Banfi G, Church S, Cornes M, De Carli G, Grankvist K, et al. Preanalytical quality improvement. In pursuit of harmony, on behalf of European Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working group for Preanalytical Phase (WG-PRE). *Clin Chem Lab Med* 2014;aop
4. Sáenz-Mateos L, Muñoz-Colmenero AU, Cabrera-Morales CM, Palomino-Muñoz TJ, Sastre-Gómez A, García-Chico-Sepúlveda P. Papel del citrato combinado con el fluoruro sódico en la estabilidad de la glucemia en la fase preanalítica. *Apuntes de ciencia. Boletín científico del HGUCR* 2013
5. Wians FH. Clinical laboratory tests: which, why, and what do the results mean? *LABMEDICINE* 2009;40(2):105-113
6. Lippi G, Gian, Salvagno L, Montagnana M, Brocco, GC Guidi. Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing. *Clin Chem Lab Med* 2006;44(3):311-316
7. Lippi G, Blanckaert N, Bonini P, Green S, Kitchen S, Palicka V, et al. Haemolysis: an overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories. *Clin Chem Lab Med* 2008;46(6):764-772
8. Laessing RH, Indriksons AA, Hassemer DJ, Paskey TA, Schwartz H. Changes in serum chemical values as a result of prolonged contact with the clot. *Am J Clin Path* 1976;66:598-604
9. Ono T, Kitabuchi K, Takehara M, Shiiba M, Hayami K. Serum-constituents analyses: effect of duration and temperature of storage of clotted blood. *Clin Chem* 1981;27:35-38
10. Chu SY, MacLeod J. Effect of three-day clot contact on results of common biochemical tests with serum. *Clin Chem* 1986;32(11):2100.

11. Boyanton BL, Blick KE. Stability studies of twenty-four analytes in human plasma and serum. *Clin Chem* 2002;48(12):2242-2247
12. Tanner M, Kent N, Smith B, Fletcher S, Lewer M. Stability of common biochemical analytes in serum gel tubes subjected to various storage temperatures and times pre-centrifugation. *Ann Clin Biochem* 2008;45:375-379
13. Oddeze C, Lombard E, Portugal H. Stability study of 81 analytes in human whole blood, in serum and in plasma. *Clinical Biochemistry* 2012;45:464-469
14. Cuhadar S, Atay A, Koseoglu M, Dirican A, Hur A. Stability studies of common biochemical analytes in serum separator tubes with or without gel barrier subjected to various storage conditions. *Biochemia Medica* 2012;22(2):202-214
15. Datta R, Baruah A, Pathak M, Barman M, Borah MB. Effect of temperature and serum-clot contact time on the clinical chemistry laboratory results. *Indian Journal of Basic and Applied Medical Research* 2014;4(1):356-362
16. World Health Organization. WHO guidelines use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. WHO Press: Geneva, 2002.
17. Ialongo C, Bernardini S. Phlebotomy, a bridge between laboratory and patient. *Biochemia Medica* 2016;26(1):17-33
18. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988;34:2111-4.
19. Heins M, Heil W, Withold W. Storage of serum or whole blood samples? Effects of time and temperature on 22 serum analytes. *Eur J Clin Chem Biochem* 1995;33:231-8.
20. Pagana K, Pagana T. Laboratorio clínico: indicaciones e interpretación de resultados. 1a ed. México DF: Editorial El manual moderno; 2015.
21. Waring WS, Evans LE, Kirkpatrick CT. Glycolysis inhibitors negatively bias blood glucose measurements: potential impact on the reported prevalence of diabetes mellitus. *J Clin Pathol* 2007;60:820-823

22. Fiaccadori E, Sabatino A, Morabito S, Bozzoli L, Donadio C, Maggiore U, et al. Disglycemia in patients with acute kidney injury in the ICU. *G Ital Nefrol* 2015;32(1).
23. Kovalaske MA, Gandhi GY. Glycemic control in the medical intensive care unit. *J Diabetes Sci Technol*. 2009;3(6):1330-1341.
24. Lheureux O, Preiser JC. Year in review 2013: Critical Care – metabolism. *Critical Care* 2014;18:571-576
25. Ahmad S, Khalid R. Blood glucose levels in neonatal sepsis and probable sepsis and its association with mortality. *J Coll Physicians Surg Pak* 2012;22(1):15-18
26. Wilby KJ, Elmekaty E, Abdallah I, Hanra M, Al-Siyabi K. Blood glucose control for patients with acute coronary syndromes in Qatar. *Saudi Pharm J*. 2016;24(1):35-39
27. Chen JH, Michiue T, Inamori-Kawamoto O, Ikeda S, Ishikawa T, Maeda H. Comprehensive investigation of postmortem glucose levels in blood and body fluids with regard to the cause of death in forensic autopsy cases. *Leg Med (Tokyo)* 2015;17(6):475-482
28. Bernadette RF. *Hematología: fundamentos y aplicaciones clínicas*. 2da ed. Buenos aires: Editorial médica panamericana; 2004.
29. Lang E, Lang F. Triggers, Inhibitors, Mechanisms, and significance of eryptosis: the suicidal erythrocyte death. *BioMed Research International* 2015;2015. <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/513518/>
30. Klarl BA, Lang PA, Kempe DS, et al. Protein kinase C mediates erythrocyte “programmed cell death” following glucose depletion. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006;290:244–253
31. Warburg O. On the origin of cancer cells. *Science* 1956;123(3191):309-314
32. Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science* 2009;324(5930):1029-1033
33. Wang T, Marquardt C, Foker J. Aerobic glycolysis during lymphocyte proliferation. *Nature* 1976;261(5562):702-705

34. Hume DA, Radik JL, Ferber E, Weidemann. Aerobic glycolysis and lymphocyte transformation. *Biochem J* 1978;174(3):703-709
35. Norman M, Jones I. The shift from fluoride/oxalate to acid citrate/fluoride blood collection tubes for glucose testing — The impact upon patient results. *Clinical Biochemistry* 2014;4:683-685
36. Chan H, Lunt H, Thompson H, Heenan HF, Frampton CMA, Florkowski CM. Plasma glucose measurement in diabetes: impact and implications of variations in sample collection procedures with a focus on the first hour after sample collection. *Clin Chem Lab Med* 2014;52(7):1061-1068
37. Tirosh A, Shai I, Tekes-Manova D, Israeli E, Pereg D, Shochat T, et al. Normal fasting plasma glucose levels and type 2 diabetes in young men. *N Engl J Med* 2005;353:1454–1462
38. NCCLS. Aplicación de un modelo de sistema de la calidad para los servicios de laboratorio; Guía aprobada-Segunda edición. NCCLS documento GP26-A2 (ISBN 1-56238-483-X). Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2003.
39. NCCLS. Procedures for the handling and processing of blood specimens; Approved guideline-Third edition. NCCLS document H18-A3. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2004.
40. Ridefelt P, Akerfeldt T, Helmersson-Karlqvist J. Increased plasma glucose levels after change of recommendation from NaF to citrate blood collection tubes. *Clinical Biochemistry* 2014;47:625-628
41. Fernandez L, Jee P, Klein MJ, Fischer P, Perkins SL, Brooks SPJ. A comparison of glucose concentration in paired specimens collected in serum separator and fluoride/potassium oxalate blood collection tubes under survey 'field' conditions. *Clinical Biochemistry* 2013;24:285–288
42. Li G, Cabanero M, Wang Z, Wang H, Huang T, Alexis H, et al. Comparison of glucose determinations on blood samples collected in three types of tubes. *Annals of Clinical & Laboratory Science* 2013;43(3):278-284

43. Antonozzi I, Gulletta E. Medicina de laboratorio Fundamentos y aplicaciones en el diagnóstico clínico. 1ra ed. México: Editorial Médica Panamericana; 2015
44. Yap CYF, Aw TC. Liver Function Tests (LFTs). Proceedings of Singapore Healthcare 2010; 19(1):80-82
45. Koseoglu M, Hur A, Atay A, Cuhadar S. Effects of hemolysis interferences on routine biochemistry parameters. Biochemia Medica 2011;21(1):79-85
46. Cuhadar S. Preanalytical variables and factors that interfere with the biochemical parameters: a review. OA Biotechnology 2013;2(2):19-25
47. Kristjansson RP, Oddsson A, Helgason H, Sveinbjornsson G, Arnadottir GA, Jensson BO, et al. Common and rare variants associating with serum levels of creatine kinase and lactate dehydrogenase. NATURE COMMUNICATIONS 2016 (Consultado junio 28, 2016, DOI: 10.1038/ncomms10572)
48. Shepherd J, Warner MH, Kilpatrick ES. Stability of creatinine with delayed separation of whole blood and implications for eGFR. Ann Clin Biochem 2007;44: 384-387
49. Gary L. Myers GL, Miller WG, Coresh J, Fleming J, Greenberg N, Greene T, et al. Recommendations for improving serum creatinine measurement: A report from the laboratory working group of the national kidney disease education program. Clin Chem 2006;52(1):5-18
50. Lee JE, Hong M, Park SK, Yu JI, Wang JS, Shin H, et al. Inorganic phosphorus and potassium are putative indicators of delayed separation of whole blood. Osong Public Health Res Perspect 2016;7(2):90-95
51. Bowen RAR, Hortin GL, Csako G, Otañez OH, Remaley AT. Impact of blood collection devices on clinical chemistry assays. Clinical Biochemistry 2010;43:4-25
52. Aguilar-Barojas Saraí. Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud. Salud en Tabasco 2005;11:333-338