|  |
| --- |
| **GUÍA DE PRÁCTICA DE LABORATORIO** |
| **PERÍODO ACADÉMICO** | 2024-2S |
| **ASIGNATURA** | BIBOQUIMICA CLÍNICA | **SEMESTRE:** | TERCERO | **PARALELO:** | A |
| **NOMBRE DEL DOCENTE** | **ROSA ELISA CRUZ TENEMPAGUAY** |
| **FECHA** |  Martes 05 de noviembre de 2024 |
| **NÚMERO DE PRÁCTICA** | 6 | **HORA:** | 07h0010h00 | **DURACIÓN:** | 3h |
| **NOMBRE DE LOS ESTUDIANTES** | **GRUPO 1** | **GRUPO 2** |
| **GRUPO A**1. ALENCASTRO LOZANO DIANA ELIZABETH
2. ALTAMIRANO COCA EDWIN PATRICIO
3. ANDRADE TENESACA MERILYN VIVIANA
4. AYMACAÑA RODRIGUEZ SHIRLEY MICAELA
5. CATOTA SANGO HECTOR OMAR
6. ELIZALDE ZAMBRANO BIANKA MARIELA
7. IPIALES IRUA LILIANA CAROLINA
8. MINAGUA MULLO LENIN ALEXANDER
9. TINOCO ESPINOZA ANAHELA YERALDIN
10. YUCAILLA ATUPAÑA AIDA VANESA

**GRUPO B**1. ALBAN GUEVARA ALISON FERNANDA
2. ASQUI MANYA FERNANDA ELIZABETH
3. BONIFAZ PINDUISACA LIZBETH CAROLINA
4. HUILCA BASTIDAS ESTEFANNY ABIGAIL
5. LEMA GUEVARA LILIANA MISHELLE
6. PILLAJO LATA MARIA CAROLINA
7. PULLAY DAQUILEMA LUIS FREDDY
8. QUEZADA GUAMAN NIURKA ABIGAIL
9. SAILEMA SAILEMA EVELYN ARACELY
10. TISALEMA PANIMBOZA VANESSA ABIGAIL
 | **GRUPO C**1. CHAFLA RODRIGUEZ EDGAR RAUL
2. LEMACHE BONILLA JEIMSON JOEL
3. MALAN AZOGUE ARIEL SEBASTIAN
4. MARTINEZ YAMASQUE MISHEL SAMARA
5. OLEAS OLEAS MONICA ISABEL
6. SAMUEZA FARINANGO MELANY NICOLE
7. SINCHE ARROBA SEBASTIAN ISMAEL
8. SOLIS SANCHEZ DOMENICA MONSERRATE
9. YUPA ALMENDARIZ JHEIMY LISBETH
10. ZURITA CARRILLO BRYAN SMITH

**GRUPO D**1. ALTAMIRANO IDROVO MAURICIO ALEJANDRO
2. CARRILLO ZURITA KERLY MELISA
3. CASTILLO SARANGO MARIA JOSE
4. CHAGLLA CRIOLLO JUAN ANDRES
5. CUCAS TABANGO VANESSA ESTEFANYA
6. ENCALADA PALA ARLETH YELENA
7. LLAMUCA TOMALA RONNY FERNANDO
8. MARQUINA AMON CARMEN LUCIA
9. MURILLO QUIMI MELANIE DEL ROCIO
10. TAPIA HERRERA JENNIFER ESTEFANIA
 |
| **LUGAR DE LA PRÁCTICA** | Laboratorio E201  |
| **TÍTULO DE LA UNIDAD** | Diagnóstico de laboratorio en trastornos del metabolismo de Lípidos |
| **TEMA DE LA PRÁCTICA** | Dosificación de colesterol total  |
| **RESULTADO DE APRENDIZAJE.** |
| Relaciona los trastornos del metabolismo de lípidos, a través de la ejecución de procedimientos, métodos y técnicas bioquímicas manuales y automatizadas, para efectuar un adecuado diagnóstico de laboratorio. |
| **OBJETIVO GENERAL** | Cuantificar concentraciones de colesterol total en suero sanguíneo de sujetos con metabolismo normal de lípidos  |
| **Objetivos específicos** | * Consultar y registrar si el paciente se encuentra adecuadamente preparado para cuantificar colesterol (fase preanalítica).
* Identificar los valores de referencia y clasificación para triglicéridos.
* Calcular las concentraciones de colesterol total en la muestra de suero objeto de análisis.
* Interpretar los resultados obtenidos y correlacionarlos con su importancia biomédica.
* Analizar los distintos métodos de análisis utilizados en las determinación manual y actualizada de colesterol total.
 |
| **FUNDAMENTO TEÓRICO:** |
| COLESTEROLEl colesterol es el principal esterol de los tejidos animales. Lípido estructural de la membrana plasmática de las células eucariotas (rara vez en procariotas). Estructura esteroide: cuatro anillos, tres con 6C y uno con 5 C. Núcleo casi plano, rígido. Anfipático: grupo de cabeza polar (–OH del C3) y un cuerpo hidrocarbonado apolar (el núcleo Esteroideo y la cadena lateral hidrocarbonada). Además de su papel como constituyente de las membranas, es precursor de ácidos biliares, hormonas esteroides, etc.SIGNIFICADO CLINICO El colesterol sanguíneo se presenta en forma de esterol libre y en forma esterificada. El conocimiento del nivel lipídico plasmático (colesterol y triglicéridos) junto con el de las lipoproteínas de alta y baja densidad (HDL y LDL) son de gran ayuda en la detección de muchas condiciones ligadas a alteraciones metabólicas de alto riesgo. El desequilibrio del nivel de lipoproteínas plasmáticas conduce a las hiperlipoproteinemias, grupo de desórdenes que afectan los niveles de lípidos séricos causantes de la enfermedad cardíaca coronaria (ECC) y la arterioesclerosis, en las que los niveles de colesterol son importantes en su diagnóstico y clasificación. La ictericia de tipo obstructivo va acompañada por lo general de una tasa de colesterol total elevada, con una fracción normal de colesterol esterificado. La diabetes, el hipotiroidismo y ciertas enfermedades renales exhiben el mismo tipo de desequilibrio. Valores bajos de colesterol total con tasas normales de colesterol esterificado se hallan en el hipertiroidismo y casos de malnutrición.COLESTEROL TOTALMÉTODO DE ANALISIS: ENZIMÁTICO COLORIMÉTRICO, PUNTO FINALEste método para la determinación de colesterol total en suero se basa en el uso de tres enzimas: Colesterol Esterasa (CE), Colesterol Oxidasa (CO) y Peroxidasa (POD). En presencia de este último la mezcla de Fenol y 4-AminoAntipirina (4-AA) se condensan por acción del Peróxido de Hidrógeno, formando una Quinonaimina coloreada proporcional a la concentración de colesterol en la muestra. PREPARACION DE LOS REACTIVOS El Monoreactivo y el Patrón están listos para su uso. MUESTRAS Suero libre de hemólisis o plasma heparinizado u obtenido con EDTA. El colesterol en suero o plasma es estable unos 5 días a 2-8ºC y unos 6 meses a –20ºC.INTERFERENCIASLipemia (intralipid 5 g/L) interfiere.Bilirrubina (40 mg/dL) no interfiere.Hemoglobina (> 1 g/L) puede afectar los resultados.Otros medicamentos y sustancias pueden interferir.VALORES DE REFERENCIA Valores clínicos actualizados de colesterol total empleados para clasificar los grupos de riesgo.CARACTERISTICAS ANALITICAS- Limite detección: 1,20 mg/dL- Linealidad. Hasta 600 mg/dLALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD Conservar a 2-8ºC.Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Mantener los frascos cerrados, protegidos de la luz y evitar la contaminación durante su uso.Descartar si se observan signos de deterioro:- Presencia de partículas y turbidez.- Absorbancia del Blanco (A) a 500 nm > 0,200 en cubeta de 1 cm.PREPARACION DE LOS REACTIVOSEl Monoreactivo y el Patrón están listos para su uso. |

|  |
| --- |
| **MATERIALES Y MÉTODOS** |
| **Equipos** | **Materiales** | **Reactivos** |
| * Fotómetro o colorímetro para mediciones a 500 ± 10 nm, con unidad termostatizada ajustable a 37ºC
* Centrifuga
* Estufa
 | * Micropipetas automáticas 10-100µL, 100-1000µL
* Porta micropipetas
* Temporizador
* Gradilla
* Tubos de ensayo de limpios grandes y pequeños y secos
* Puntas amarillas y azules
* Suero sanguíneo
 | Kit Colesterol Total* Monoreactivo. PIPES 200 mmol/L pH 7,0, colato sódico 1 mmol/L, colesterol esterasa > 250 U/L, colesterol oxidasa > 250 U/L, peroxidasa > 1 KU/L, 4-aminoantipirina 0,33 mmol/L, fenol 4 mmol/L, tensioactivos no-iónicos 2 g/L (p/v). Biocidas.
* Patrón de Colesterol. Colesterol 200 mg/dL (5,18 mmol/L). Patrón primario de matriz orgánica. El valor de concentración es trazable al Material de Referencia Certificado 909b.
 |
| **PROCEDIMIENTO / TÉCNICA:** |
| * Equilibrar reactivos y muestras a temperatura ambiente
* Pipetear en los tubos rotulados:
* Para triglicéridos y colesterol total seguir el siguiente esquema:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| TUBOS | BLANCO | PATRON (STANDARD) | MUESTRA (Suero) |
| Reactivo  | 1mL | 1mL | 1mL |
| Standard  | - | 10µL | - |
| Muestra (Suero) | - | - | 10µL |

* Mezclar y reposar los tubos 10 minutos a temperatura ambiente ó cinco minutos a 37ºC.
* Leer la absorbancia (A) del patrón (standard) y de la muestra frente al blanco del reactivo. El color es estable por 30 minutos protegidos de la luz.
* Calcular la concentración de colesterol total en mg/dL, Para expresar los resultados en unidades SI aplicar: colesterol total mg/dL\*0.0259 = mmol/L
* Muestras con concentraciones superiores a 600mg/dL de colesterol deben diluirse 1:2 con solución salina y repetir el ensayo. Multiplicar los resultados por 2.
* Límite de detección = 1,20 mg/dL en colesterol total.
* Linealidad= Hasta 600mg/dL en colesterol total.

**CALCULOS:** $$Concentración Colesterol total mg/dL =\frac{A muestra}{A Standard}xC Standard$$**ó con:**$$Factor =\frac{C Standard}{A Standard}$$$$Concentración colesterol total\frac{mg}{dL}=A muestra x Factor$$ |
| **RESULTADO (Gráficos, cálculos, etc.)** |
| (Se refiere a lo ejecutado en la práctica) |
| **OBSERVACIONES** |
|  |
| **CONCLUSIONES** |
|  |
| **RECOMENDACIONES** |
|  |
| **BIBLIOGRAFÍA** |
| 1. Henry J. El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. Madrid, Marbán. 2005
2. Linear Chemicals. Colesterol Total, Enzimático colorimétrico de punto final. 2019 [citado 19 octubre 2024]. Disponible en: <https://www.linear.es/ficheros/archivos/29_1118005C.pdf>
 |
|  |  |  |
| **Mgs. Ximena Robalino** | **Mgs. Rosa Elisa Cruz** | **Mgs. Franklin Ramos** |
| **DIRECTORA DE CARRERA** | **DOCENTE** | **RESPONSABLE DEL LABORATORIO** |