

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALÚD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO**

Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Licenciado en Ciencias de la Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico

TRABAJO DE TITULACION

“DETERMINACIÓN DE BILIRRUBINAS Y FOSFATASA ALCALINA COMO APORTE PARA EL ESTABLECIMIENTO DE VALORES DE REFERENCIA EN ESTUDIANTES DE UNIDADES EDUCATIVAS RURALES DEL CANTÓN RIOBAMBA.”

Autores:

ALEX BLADIMIR AUCANCELA MULLO

ANDRÉS MIGUEL MÉNDEZ AUCANSHALA

Tutor: Lcda. Elena Brito

Riobamba - Ecuador

Año 2018

REVISION DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación de título: "Determinación de bilirrubinas y fosfatasa alcalina como aporte para el establecimiento de valores de referencia en estudiantes de Unidades Educativas rurales del cantón Riobamba", presentado por Alex Bladimir Alcáncela Mullo y Andrés Miguel Méndez Acénsala y dirigida por: Lcda. Elena Brito, una vez escuchada la defensa oral y recibido el informe final del proyecto de investigación con fines de graduación escrito en el cual se ha constado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para uso y constancia en la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNACH.

Dra. Patricia Miño

Presidenta del Tribunal


.....

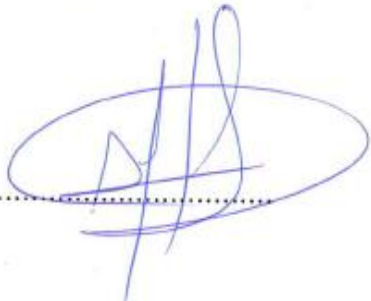
Mercedes Balladares Saltos, Mgs.

Miembro del Tribunal


.....

Ing. Félix Falconí

Miembro del Tribunal


.....

DECLARACIÓN DE LA TUTORÍA DE INVESTIGACIÓN

Yo, Lcda. Elena Brito docente de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico en calidad de tutor del proyecto de investigación con el tema: "Determinación de bilirrubinas y fosfatasa alcalina como aporte para el establecimiento de valores de referencia en estudiantes de unidades educativas rurales del cantón Riobamba", propuesta por los Señores. Alex Bladimir Aucancela Mullo y Andrés Miguel Méndez Aucanshala, egresados de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Facultad de Ciencias de la Salud, luego de haber realizado las debidas correcciones, certifico que se encuentra apto para la defensa pública del proyecto. Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad facultando a los interesados hacer uso del presente para los trámites correspondientes.



Lcda. Elena Brito

Docente de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

DERECHOS DE AUTORIA

“La responsabilidad del contenido de este Proyecto de Graduación, nos corresponde exclusivamente a: Aucancela Mullo Alex Bladimir y Méndez Aucanshala Andrés Miguel, y de la Directora del Proyecto; Dra. Liliana Araujo y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Nacional de Chimborazo.”

Aucancela Mullo Alex Bladimir

C.I: 060609171-8

Méndez Aucanshala Andrés Miguel

C.I. 060496147-4

AGRADECIMIENTO

Agradecemos con todas las fuerzas de nuestro ser a Dios quien es guía y luz para lograr el sueño más anhelado. Además a la prestigiosa Universidad Nacional de Chimborazo, a la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico, ilustres docentes, Dr. Marcelo Ortiz y Lcda. Elena Brito quienes con paciencia y buena voluntad supieron orientar nuestro trabajo de investigación.

Así como también a las diferentes casas de salud donde realizamos nuestras prácticas profesionales.

Alex Bladimir

Agradecemos con todas las fuerzas de nuestro ser a Dios quien es guía y luz para lograr el sueño más anhelado. Además a la prestigiosa Universidad Nacional de Chimborazo, a la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico, ilustres docentes, Dr. Marcelo Ortiz y Lcda. Elena Brito quienes con paciencia y buena voluntad supieron orientar nuestro trabajo de investigación.

Así como también a las diferentes casas de salud donde realizamos nuestras prácticas profesionales.

Andrés Miguel

DEDICATORIA

A Dios por estar presente cada instante de mi vida cuidándome, dándome fortaleza y la oportunidad de llegar a este momento, importante de mi vida. A mis queridos padres, tía, primos, mi novia con amor, cariño, y con su apoyo supieron compartir momentos de felicidad y trabajo, que para mí se convirtieron en pilar fundamental para la terminación de mis estudios académicos.

Alex Bladimir

A Dios, que me dio la oportunidad de vivir, de regalarme una familia maravillosa y ejemplar. Con mucho afecto y cariño a mi Madre Anita quien me dio la vida, que ha estado conmigo en todo momento. Gracias por todo Mami tú fuiste un ejemplo de lucha, esfuerzo y sacrificio para mí y mis hermanos, por darme una carrera para mi futuro, por creer siempre en mí hasta el final, apoyándome brindándome todo tu amor y comprensión, le agradezco de todo corazón, desde el cielo sé que me cuidara y guiara. A mi hermana Valeria que por apoyarme en estos años de estudio, escucharme en todo momento y darme ánimo. A mis hermanos, José Luis y Dayana por darme la fuerza el apoyo incondicional que nunca me ha faltado para seguir adelante en la vida.

Andrés Miguel

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	4
Objetivo General.....	4
Objetivos Específicos	4
ESTADO DEL ARTE RELACIONADO A LA TEMÁTICA O MARCO	
TEÓRICO.....	5
Hígado.....	5
Funciones metabólicas del hígado	5
Bilirrubinas	5
Transporte de la bilirrubina	6
Metabolismo en el hígado.....	6
Alteraciones en el metabolismo de los pigmentos biliares.....	6
Hiperbilirrubinemia	6
Hiperbilirrubinemia indirecta	7
Hiperbilirrubinemia directa	7
Hipobilirrubinemia	8
Principios de procedimiento	8
Bilirrubina total.....	9
Bilirrubina directa	9
Fosfatasa alcalina	9
Condiciones fisiológicas que elevan la fosfatasa alcalina	10
Aumento de la fosfatasa alcalina	11
Disminución de la fosfatasa alcalina	11
Dactores de interferencia	12

Técnica de la fosfatasa alcalina	12
Principios de procedimiento	12
Valores de referencia para exámenes de sangre	12
Automatización en el laboratorio de bioquímica clínica	13
Automatización de la preparación de los especímenes.....	13
Calidad.....	14
Control de calidad.....	14
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACION.....	15
Diseño de la investigación.	15
Tipo de investigación.....	15
Cohorte	15
Carácter.....	15
DETERMINACIÓN DE LA POBLACIÓN Y MUESTRA.....	15
Población	15
Muestra:	16
TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	16
Instrumentos	17
Procedimientos	17
Análisis de datos	17
Flebotomía	18
Obtención de suero sanguíneo	18
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	19
CONCLUSIONES.....	25
RECOMENDACIONES.....	26
BIBLIOGRAFÍA.....	27
ANEXOS.....	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Análisis de datos de acuerdo al género.....	19
Tabla 2. Análisis de datos de acuerdo a la edad	19
Tabla 3. Clasificación de las concentraciones de bilirrubinas del grupo de estudio según los valores de referencia de los reactivos de SIEMENS.....	20
Tabla 4. Clasificación de las concentraciones de fosfatasa alcalina del grupo de estudio según los valores de referencia de los reactivos de la casa comercial SIEMENS.....	20
Tabla 5. Análisis de resultados de bilirrubinas.....	21
Tabla 6. Análisis de resultados de fosfatasa alcalina.....	22
Tabla 8. Análisis de resultados de acuerdo a la varianza de fosfatasa alcalina	23

RESUMEN

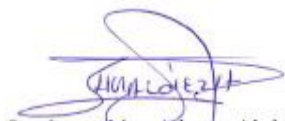
Los valores de referencia son importantes en una población determinada ya que los mismos se modifican según varios factores como las características demográficas de la población sana; el presente trabajo de investigación emplea un estudio de campo, no experimental, descriptivo y transversal, que tiene como objetivo determinar bilirrubinas y fosfatasa alcalina como aporte para el establecimiento de valores de referencia en estudiantes de 14 a 18 años de edad de las Unidades Educativas rurales del cantón Riobamba, esta investigación se basa en el aporte en el análisis de la concentración de bilirrubinas y fosfatasa alcalina en suero sanguíneo empleando métodos técnicos y materiales de laboratorio clínico; de acuerdo a los resultados obtenidos se establece que los valores de bilirrubina total fueron de 0,20 a 0,92 (mg/ dl), bilirrubina directa de 0,05 a 0,70 (mg/ dl), la bilirrubina indirecta de 0,10 a 0,60 (mg/ dl) y fosfatasa alcalina de 53 a 188 UI/L, estableciendo que las bilirrubinas totales y parciales en la población en estudio se encuentran en rangos normales, mientras que la fosfatasa alcalina una tercera parte presentó valores elevados donde el coeficiente de variación de bilirrubina total fue de 0,33 mg/dl, directa 0,72 mg/dl e indirecta con 0,32 mg/dl y fosfatasa alcalina con 0,19 UI/L lo cual indica que el coeficiente de variación está dentro de los rangos establecidos; la finalidad de este trabajo investigativo es aportar a futuras investigaciones sobre valores de referencia en una población de adolescentes.

Palabras clave: Bilirrubina total, directa, indirecta, fosfatasa alcalina, valores referenciales

ABSTRACT

The reference values are important in a given population since they are modified according to several factors such as the demographic characteristics of the healthy population. This research work uses a field study, non-experimental, descriptive and cross-sectional, which aims to determine bilirubin and alkaline phosphatase as a contribution to the establishment of reference values in students from 14 to 18 years of age of the Rural Educational Units of Riobamba Canton, this investigation is based on the contribution in the analysis of the concentration of bilirubin's and alkaline phosphatase in blood serum using technical methods and clinical laboratory materials; According to the results obtained, it is established that the total bilirubin values were from 0.20 to 0.92 (mg / dl), direct bilirubin from 0.05 to 0.70 (mg / dl), indirect bilirubin from 0 , 10 to 0.60 (mg / dl) and alkaline phosphatase from 53 to 188 UI / L, establishing that the total and partial bilirubins in the study population is in normal ranges, while the alkaline phosphatase one third part, presented elevated values where the coefficient of variation of total bilirubin was 0.33 mg / dl, direct 0.72 mg / dl and indirectly with 0.32 mg / dl and alkaline phosphatase with 0.19 IU / L which indicates that the coefficient of variation is within the established ranges; the purpose of this search work is to contribute to future research on reference values in a population of adolescents.

Key words: Total bilirubin, direct, indirect, alkaline phosphatase, reference values.



Reviewed by: López, Ligia
LANGUAGE CENTER TEACHER.



INTRODUCCIÓN

El laboratorio clínico dentro del área de la salud es un departamento de suma importancia y utilidad ya que mediante el análisis de los diferentes tipos de muestras o especímenes, brindan un valioso soporte como ayuda de diagnóstico de las distintas patologías. Actualmente existe un gran interés en la estandarización de los sistemas de aseguramiento de calidad. La Organización Internacional para la Estandarización (ISO) indica que cada laboratorio debe tener valores de referencia que son base fundamental para todas las pruebas que se ejecutan ⁽¹⁾. Además los valores de referencia son útiles en una determinada población ya que los mismos se modifican según varios factores como las características demográficas de la población sana para lo cual se analizara suero sanguíneo a través de métodos y técnicas específicos para química, de allí la importancia de definir y/o validar sus propios valores de referencia.

Las bilirrubinas son el producto final del proceso de degradación o hemólisis de los eritrocitos los mismos que al pasar por los espacios trabeculares del bazo son destruidos produciendo liberación de hemoglobina la misma que es fagocitada por los macrófagos ⁽²⁾.

La bilirrubina se define como un producto de la biotransformación del hemo. Se la denomina bilirrubina indirecta o no conjugada, ya que no puede atravesar otras membranas que no sean las hepáticas así llega hasta el hígado. En el hígado se conjuga con ácido glucurónico obteniéndose bilirrubina conjugada o directa, que es hidrosoluble, y circula libremente en la sangre. Los valores de referencia de bilirrubinas normal del adulto y del niño es de menos 1 mg/dl. Estos valores se encontrarán elevados cuando la cifra de bilirrubina en la sangre excede de 1 mg/dl, existe hiperbilirrubinemia ⁽³⁾.

La fosfatasa alcalina (FA) es una enzima situada en la membrana celular que intervienen a diferentes procesos fisiológicos como la precipitación del fosfato cálcico en los huesos y absorción de fosfatos por el intestino ⁽⁴⁾. Los valores de referencia de la fosfatasa alcalina (FA) normal es de 44 a 147 UI/L (Unidades internacionales sobre litro), los valores normales pueden variar ligeramente de un laboratorio a otro, al igual con la edad y el sexo. Los niveles altos de FA normalmente se presentan aumentados en niños que atraviesan en un proceso normal de crecimiento óseo y en las mujeres embarazadas ⁽⁵⁾.

Con todo esto se espera realizar estudios investigativos locales que nos permitan conocer los valores normales y consigo el estado de salud de la población adolescente de la ciudad de Riobamba y sus alrededores.

Los valores de referencia hoy en día son utilizados por los fabricantes de reactivos con las diferentes técnicas, tomando en cuenta que no necesariamente corresponden a la población local debido diversos factores como el estilo de vida, genética, geografía, los cuales de una u otra manera no podrían ajustarse a los valores de referencia, observándose discrepancias con los valores encontrados como referentes. Dado que en nuestro país aún no hay publicaciones al respecto, es imperativo contar con información generada en nuestro medio y contrastarla con los resultados publicados en la literatura internacional, ya que cada vez hay más centros donde se realizan este tipo de análisis.

Así la valoración de la función hepática se realiza atreves de pruebas específicas como las enfocadas en nuestro estudio. Las mismas que nos orientan hacia la determinación de un daño hepático (hiperbilirrubinemia e hiperfosfatasemia) según la patología que cursa la población en estudio.

Así estas pruebas que demuestran funcionamiento y trastornos hepáticos tenemos principalmente las transaminasas y GGT. Ante la presencia de síntomas iniciales de trastornos hepáticos tenemos la presencia de ictericia, la cual clínicamente y subclínico se traduce en el aumento de bilirrubina y al presencia de elevación de enzimas como TGO y TGP además de la fosfatasa alcalina; de tal forma que para determinar la anormalidad es necesario conocer datos estándares de valores normales.

La presente investigación se enfoca tomando en cuenta que ningún laboratorio de análisis clínico del cantón Riobamba de la provincia de Chimborazo trabajan con sus propios valores de referencia, por lo que se utilizan valores de referencia establecidos por los fabricantes de reactivos, los cuales no aseguran una adecuada correlación y soporte en el diagnóstico clínico, considerando las características étnicas, factores demográficos y geográficos de nuestra localidad. Por lo tanto consideramos aportar con este estudio de bilirrubina y fosfatasa alcalina como aporte a futuras investigaciones encaminadas de valores de referencia en estudiantes cuyas edades oscilan entre 14 a 18 años de edad de unidades educativas rurales de Riobamba.

Como estudiantes de la carrera de Laboratorio Clínico nos hemos propuesto realizar la presente investigación ya que contamos con la formación académica que nos permite realizar el análisis de diferentes muestras bilógicas lo que implica aplicar técnicas y

validar resultados fiables para aportar con datos importantes ya que en las bibliografías consultadas no se encontraron estudios en nuestro medio. Por esta razón el objetivo de la presente investigación es aportar datos al perfil hepático de los estudiantes de unidades educativas, en el Cantón Riobamba, para estudios posteriores sobre los valores de referencia de estos parámetros bioquímicos en dicha población.

Además a través de la investigación a estudiantes de 14 a 18 años de edad tenemos una visión más amplia de los requerimientos de estudio para obtener los valores de referencia de una población.

Con la realización de este proyecto investigativo cumplimos con un requisito para culminar nuestra carrera profesional.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Determinar la concentración de bilirrubinas y fosfatasa alcalina como aporte para el establecimiento de valores de referencia en estudiantes de Unidades Educativas rurales de cantón Riobamba.

Objetivos Específicos

- Analizar la concentración de bilirrubinas y fosfatasa alcalina en suero sanguíneo de los estudiantes de bachillerato de las Unidades Educativas Rurales del cantón Riobamba.
- Comparar los valores de referencia obtenidos de bilirrubinas y fosfatasa alcalina con otras investigaciones.
- Determinar la varianza de los resultados obtenidos de bilirrubina y fosfatasa alcalina en el grupo de estudio.

ESTADO DEL ARTE RELACIONADO A LA TEMÁTICA O MARCO TEÓRICO

HÍGADO

El hígado se considera el órgano de mayor tamaño del abdomen, el cual está delimitado medialmente por el estómago, duodeno y colon transverso, e inferiormente por la flexura hepática del colon y posteriormente por riñón derecho ⁽⁶⁾.

Funciones metabólicas del hígado

- **Síntesis de proteínas plasmáticas:** Dentro de las cuales tenemos; gammaglobulinas plasmáticas que son sintetizadas por las células plasmáticas (anticuerpos).

Para la síntesis de las proteínas el hígado utiliza aminoácidos derivados de los alimentos (proteínas exógenas) o del músculo (proteínas endógenas) que llegan al hígado por la porta; igualmente utiliza aminoácidos sintetizados por la propia glándula ⁽⁷⁾.

- **Síntesis de ácidos grasos:** su conversión en cetonas; formación de lipoproteínas, colesterol y fosfolípidos ⁽⁷⁾.
- **Metabolismo de los hidratos de carbono:** el hígado es fundamentalmente importante para conservar una glucemia normal. Deposita glucosa en forma de glucógeno, transforma el glucógeno en glucosa y forma glucosa a partir de aminoácidos y lípidos ⁽⁷⁾.

BILIRRUBINAS

La Bilirrubina es un producto de deshecho del metabolismo de la hemoglobina. Los hematíes viejos, defectuosos o dañados, son aislados por las células fagocíticas (macrófagos) dentro de las mismas, la hemoglobina se metaboliza y el hemo se convierte en bilirrubina, que es liberada hacia el torrente sanguíneo ⁽⁸⁾.

Se considera a la bilirrubina como el metabolito más importante del grupo de hemo, que se localiza en la hemoglobina, la mioglobina y los citocromos. Los individuos adultos sanos producen entre 250 mg y 350 mg de bilirrubina al día ⁽⁹⁾.

TRANSPORTE DE LA BILIRRUBINA

La bilirrubina no conjugada o indirecta, (B.I) circula en el plasma fusionado a la albúmina (Al). Generalmente en estas condiciones no traspasa la barrera hematoencefálica. Puede aparecer bilirrubina no conjugada libre (B.I) (no unida a la (Al)). Se obtiene bilirrubina conjugada o directa que se describe por ser soluble en agua y no circular a través de las membranas celulares ⁽¹⁰⁾.

Metabolismo en el hígado

Se puede observar 3 fases del metabolismo de la bilirrubina en el hígado:

- **Captación:** Se produce desde la circulación periférica, la bilirrubina indirecta ingresa al interior del hepatocito, en donde la misma se desliga de la molécula transportadora en el polo sinusoidal, desde aquí se une a una proteína (ligandina) y avanza hacia la zona microsomal en donde se produce la segunda fase del metabolismo ⁽¹¹⁾.
- **Conjugación:** Este proceso químico consiste en la conjugación de la bilirrubina con una o dos moléculas de ácido glucurónico, esta reacción es catalizada por el UDP-GT (uridindifosfato-glucoroniltransferasa) lo cual da lugar al monoglucurato (20%) y al di-glucuronato (80%) que es la bilirrubina directa o conjugada y que es soluble ⁽¹¹⁾.
- **Excreción por la bilis:** El glucoronido de bilirrubina se produce activamente en la bilis y se dirige hacia el intestino. Las bacterias intestinales van a metabolizar esta bilirrubina y la convierten en una serie de pigmentos llamados urobilinógenos los mismos que en parte se oxidan a urobilina. Estos pigmentos parcialmente se absorben, luego pasan a la circulación general y se excretan por vía renal ⁽¹¹⁾. En el adulto sano se puede observar que la eliminación diaria de urobilinógeno por la orina es alrededor de <5mg/día. El urobilinógeno y urobilina no absorbidos se van a convertir en estercobilina, pigmento que otorga a las heces su color característico ⁽¹¹⁾.

ALTERACIONES EN EL METABOLISMO DE LOS PIGMENTOS BILIARES

HIPERBILIRRUBINEMIA

Los valores de bilirrubina normal en el adulto y niño mayor son menores de 1 mg/dl. Cuando el valor de bilirrubina en la sangre excede de 1 mg/dl, existe hiperbilirrubinemia. La bilirrubina se acumula en sangre, y cuando alcanza una cierta concentración difunde a los tejidos⁽¹⁰⁾. Este signo se conoce como ictericia y se caracteriza por la coloración amarilla en piel y mucosas, manifestación clínica muy común. La hiperbilirrubinemia

puede deberse a una producción excesiva de este pigmento o disminución en su excreción, además la obstrucción de conductos excretorios del hígado, también causará hiperbilirrubinemia⁽¹⁰⁾. La ictericia se puede observar en múltiples enfermedades, que van desde la hepatitis viral hasta cáncer de páncreas. La ictericia en los adultos se manifiesta con valores de bilirrubina mayores de 2 mg/dl. Para que un recién nacido se presente icterico los valores de bilirrubina debe ser mayor de 7 mg/dl⁽¹⁰⁾.

Tipos de ictericias

- Pre-hepáticas o Hemolíticas
- Hepáticas o Hepatocelulares
- Post-hepáticas u Obstructivas⁽¹⁰⁾.

Interpretación de la hiperbilirrubinemia

Una vez que se determina un incremento de la bilirrubina en los exámenes de sangre, el primer paso es confirmar si se trata de una hiperbilirrubinemia de predominio conjugado (hiperbilirrubinemia “directa”) o no conjugado (hiperbilirrubinemia “indirecta”) ⁽¹²⁾.

HIPERBILIRRUBINEMIA INDIRECTA

La causa de hiperbilirrubinemia indirecta es una producción incrementada de bilirrubina, esto se produce normalmente por aumento del catabolismo de hemoglobina, como podemos observar en las anemias hemolíticas. Además se puede observar hemólisis en otros exámenes de sangre, como anemia, VCM elevada, LDH elevada y haptoglobina disminuida ⁽¹²⁾. La hemólisis ocasionalmente produce elevaciones de bilirrubina mayores de 6 mg/dl. Entre otras causas de hiperbilirrubinemia indirecta es el síndrome de Gilbert, que se caracteriza por una disminución de la capacidad hepática de conjugación de la bilirrubina. El resto de pruebas hepáticas son normales en el síndrome de Gilbert. Una causa muy infrecuente de elevación de bilirrubina no conjugada es el síndrome de Crigler-Najjar, que habitualmente es diagnosticada al momento de nacer por la presencia de hiperbilirrubinemia marcada (20 mg/dl en Crigler-Najjar tipo I) ⁽¹²⁾.

HIPERBILIRRUBINEMIA DIRECTA

La hiperbilirrubinemia directa se encuentra asociada a enfermedades hepáticas debido a una insuficiente capacidad de excreción. La elevación de bilirrubina conjugada en sangre es uno de los hallazgos característicos de los cuadros colestásicos y se acompaña de

incremento de la fosfatasa alcalina y GGT. Su aumento puede tener varias causas dentro de las cuales tenemos:

- **Obstrucción de la vía biliar:** Esta se da por la presencia de cálculos, tumores de la vía biliar o páncreas ⁽¹²⁾.
- **Enfermedades hepáticas colestásicas:** Dentro de las cuales tenemos; Cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante primaria o secundaria, hepatotoxicidad por medicamentos o tóxicos, entre otros ⁽¹²⁾.
- **Hepatitis agudas:** Una inflamación aguda del hígado puede provocar elevaciones marcadas de la bilirrubina la misma que se da por falla de la excreción a nivel de la célula hepática. En estos casos se puede observar la elevación de la bilirrubina la misma que es de predominio directo y se acompaña de elevaciones importantes de aminotransferasas (transaminasas, SGPT y SGOT) ⁽¹²⁾.
- **Cirrosis:** La cirrosis hepática en ocasiones puede acompañarse de elevaciones progresivas de la bilirrubina. Es importante subrayar que la elevación de bilirrubina es un fenómeno relativamente tardío en las enfermedades hepáticas crónicas y refleja un daño importante a nivel de la función hepática ⁽¹²⁾.
- **Elevaciones aisladas de bilirrubina directa:** Algunas de las enfermedades genéticas poco frecuentes se caracterizan por el incremento aislado de bilirrubina directa, con el resto de las pruebas hepáticas normales ⁽¹²⁾.

HIPOBILIRRUBINEMIA

Este tipo de alteraciones tiene poco interés clínico y puede observarse en las anemias aplásicas o ferropénicas intensas ⁽¹³⁾.

PRINCIPIOS DE PROCEDIMIENTO

Encontramos cuatro fracciones de bilirrubina diferentes que componen la bilirrubina total en suero sanguíneo. Las fracciones de reacción directa son la monobilirrubina y la bilirrubina diconjugada y la bilirrubina delta, que se encuentran en estrecho unión con la albumina ⁽¹⁴⁾. La bilirrubina no conjugada no es soluble en agua y solo reacciona después de haberse unido con la cafeína el cual se lo considera como un acelerador. El método de TBI y DBI es un cambio del método de referencia Doumas, que es una modificación del método diazo descrita por Jendrassik y Grof 1938 ⁽¹⁴⁾.

BILIRRUBINA TOTAL

Es el procedimiento el ácido sulfanildiazotizado se realiza mediante la combinación de nitrito de sodio y ácido sulfanílico en un pH bajo. La bilirrubina (no conjugada) la muestra se solubiliza una dilución de cafeína- benzoato-asetato-EDTA ⁽¹⁴⁾. Después de la adición del ácido sulfanílico diazotizado, la bilirrubina solubilizada, incluidas las bilirrubinas conjugadas (mono y diglucoronidos) y la forma delta (biliproteína – bilirrubina covalentemente ligada a la albumina), se transforma en diazobilirrubinas se transforma en diazobilirrubinas, un cromóforo rojo que representa la bilirrubina total te absorbe a 540 nm y se mide mediante una técnica de punto final dicromática (540,740nm). Se utiliza una concentración de blanco de muestra inserto SIEMENES ⁽¹⁴⁾.

BILIRRUBINA DIRECTA

Es el procedimiento el ácido sulfanildiazotizado se forma a través de la combinación de nitrito de sodio y ácido sulfanílico en un pH bajo. La muestra se diluye en 0.5 molar. HCL se toma lectura en blanco para eliminar interferencias de pigmentos no procedentes de la bilirrubina. Con la adición del ácido sulfanílico diazotizado, la bilirrubina conjugada se convierte en diazobilirrubina, un cromóforo rojo que absorbe a 540 nm y se mide utilizando de punto final bicromática (540,700nm) inserto SIEMENES ⁽¹⁴⁾.

FOSFATASAS ALCALINA

Es un grupo de isoenzimas que poseen en común la capacidad de hidrolizar los enlaces éster de los fosfatos orgánicos en un medio alcalino, tras la cual se genera un radical orgánico y un fosfato inorgánico ⁽¹⁵⁾.

Las enfermedades del hígado y del hueso son las causas más frecuentes de elevación patológica de la fosfatasa alcalina, no obstante la enzima también puede originarse en otros sitios; placenta, riñones, intestino o leucocitos ⁽¹⁶⁾.

La fosfatasa alcalina es una enzima abundantemente distribuida en el organismo, en el adulto procede en parte del hígado y en parte del hueso, sistema retículo endotelial y vascular, dando lugar a diferentes isoenzimas. La actividad sérica de fosfatasa alcalina ósea, en condiciones normales, logra la mayor actividad en los niños en edad de crecimiento (llegando a triplicar los niveles del adulto) debido a que esta isoenzima se

encuentra en los osteoblastos (relacionados con la calcificación y formación de estructuras óseas)⁽¹⁷⁾.

Así mismo es fisiológico el incremento que se produce al final del primer trimestre del embarazo, a expensas de la isoenzima placentaria que en este período alcanza niveles máximos (aproximadamente el doble de los valores normales)⁽¹⁷⁾. Entre las enfermedades que afectan la actividad sérica de fosfatasa alcalina tenemos: carcinomas metastásicos en hígado y en hueso (productores de enzima), colestasis biliar, fenómenos osteoblastos, trastornos de malabsorción acompañados de lesiones ulcerosas (donde la deficiencia de vitamina D produce osteomalacia con el consecuente aumento de fosfatasa alcalina ósea) e inclusive lesiones en vías de reparación tales como infarto agudo de miocardio, infarto pulmonar o renal ⁽¹⁷⁾.

La fosfatasa alcalina corresponde a un grupo de enzimas que intervienen en la hidrólisis de las uniones éster del ácido ortofosfórico a pH alcalino. La fosfatasa alcalina sérica posee varios orígenes dentro de los cuales tenemos; hígado, riñón, placenta, intestino, huesos, leucocitos, no obstante los orígenes más importantes son el hígado los huesos y el intestino ⁽¹⁸⁾. Los valores normales van a depender del método usado para su determinación; uno de los más comúnmente empleados es el de Bessey- Lowry, con el que cifra normal es de 60-170 U/l en unidades internacionales equivale a 0,75-1,92 μ kat/l ⁽¹⁸⁾.

Condiciones fisiológicas que elevan la fosfatasa alcalina

- **Crecimiento:** Durante la niñez y adolescencia los valores de fosfatasa alcalina de origen óseo pueden llegar a ser 3 veces los de un adulto normal ⁽¹⁸⁾.
- **Embarazo:** Durante el embarazo la fosfatasa alcalina de origen placentario pueden llegar doblar los niveles ⁽¹⁸⁾.
- **Diferencias por edad y sexo:** Los valores de fosfatasa alcalina son más altas a partir de los 60 años. En los adultos jóvenes los hombres presentan niveles más altos que las mujeres. En cambio a partir de los 60 años, los niveles más elevados se presentan en mujeres ⁽¹⁸⁾.

AUMENTO DE LA FOSFATASA ALCALINA

Puede determinarse el origen del incremento de la fosfatasa alcalina recurriendo a la separación electroforética de sus isoenzimas (hepática, ósea e intestinal). No obstante, en la práctica suele ser suficiente efectuar una valoración indirecta mucho más sencilla para confirmar o descartar su origen hepático, esta consiste en la determinación que se encuentra incrementada en caso de colestasis, como es la gammaglutamiltranspeptidasa (GGT)⁽¹⁹⁾.

Condiciones patológicas que elevan la fosfatasa alcalina

a) De origen hepático: estas se originan como consecuencias del proceso de colestasis.

- Colestasis obstructiva
- Cirrosis biliar
- Hepatitis agudas y crónicas ⁽¹⁹⁾.

b) De origen óseo: estas se deben al resultado de la actividad osteoplastia aumentada.

- Enfermedad de paget
- Metástasis ósea de tumores
- Hipertiroidismo primario ⁽¹⁹⁾.

c) Intestinal: estas son poco frecuentes y pocas veces provocan aumentos significativos.

- Ulcus péptico
- Malabsorción grave
- Infarto intestinal agudo ⁽¹⁹⁾.

DISMINUCIÓN DE LA FOSFATASA ALCALINA

Puede producirse en los siguientes casos:

- Hipofosfatasa congénita
- Hipotiroidismo, sobre todo infantil
- Escorbuto
- Enfermedad celiaca
- Déficit de cinc y de magnesio ⁽¹⁹⁾.

FACTORES DE INTERFERENCIA

Los principales factores que van a interferir en los valores de fosfatasa alcalina son: edad, sexo, estado hormonal los cuales se incrementa sobre los 50 años y más en mujeres postmenopáusicas que en premenopáusicas. Algunos medicamentos afectan el nivel de fosfatasa alcalina, por lo que se debe hacer un seguimiento o solicitar al paciente que los suspenda ⁽²⁰⁾.

Técnica de la fosfatasa alcalina

El método de dimensión ALPI se basa en el procedimiento de referencia principal para la medición de la actividad catalítica de la fosfatasa alcalina a 37°C, tal y como describe la federación internacional de química clínica (IFCC). El método de fosfatasa alcalina está basado en un procedimiento publicado por Bowers y McComb ⁽²¹⁾.

PRINCIPIOS DE PROCEDIMIENTO

La fosfatasa alcalina cataliza la transfosforilación del p-nitrofenilfosfato (p-NNP) EN LA presencia de tampón de transfosforilación, 2-amino-2-metil-1-propanol (AMP). La mejora mediante el uso de iones de magnesio y cinc. El cambio en la absorbancia a 405 nm debido a la formación de p-NP es directamente proporcional a la actividad de ALP, ya que los demás reactantes estén presentes en cantidades que no afecten a la tasa y se mide utilizando una técnica de tasa bicromática (405, 510nm) inserto SIEMENS ⁽²¹⁾.

VALORES DE REFERENCIA PARA EXÁMENES DE SANGRE

Los laboratorios emiten en sus informes los valores de referencia, El profesional de laboratorio emitirá un comentario con relevancia clínica al médico solicitante acerca de un valor alarmante para que este tome las medidas clínicas oportunas ⁽²²⁾.

Los valores de referencia pueden variar según diferentes factores, incluyendo las características demográficas de la población sana donde se tomaron las muestras y los métodos específicos utilizados para estudiar las muestras. Los laboratorios acreditados por el college of american pathologists (CAP) deben implementar sus propios valores de referencia al menos por una vez al año ⁽²³⁾. Lo cual todos los resultados deben ser

interpretados según los valores de referencia del laboratorio en el que se realizó el estudio; el laboratorio debe facilitar estos valores junto con los resultados de estudio ⁽²³⁾.

Los valores de referencia son una guía de los que se podrían considerar "normales" o sin patología y al encontrarse fuera de ellos no siempre indica una enfermedad, simplemente que el valor obtenido no está dentro del 95% de la población con la que se calcularon. Por lo cual no es válido utilizar algunos valores de referencia reportados en los insertos de ciertas casas comerciales, ya que fueron obtenidos, la mayoría de las veces, de poblaciones muy diferentes a los usuarios del laboratorio ⁽²⁴⁾.

Los valores de referencia pueden dividirse en:

- **Los valores individuales:** son aquellos valores anteriores de una persona, conseguidos cuando esta tenía un determinado estado de salud.
- **Los valores de referencia poblacionales:** se obtienen a partir de un grupo de personas de referencia bien definido ⁽²⁴⁾.

AUTOMATIZACIÓN EN EL LABORATORIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

Se define automatización como la descripción de los aparatos y dispositivos que se utilizan en los diferentes laboratorios de bioquímica clínica para mecanizar los procesos de preparación de los especímenes y la determinación de sustancias químicas con una reducida intervención de personal de laboratorio ⁽²⁵⁾. La automatización ha permitido afrontar al enorme incremento del número de especímenes y carga de trabajo que se han producido en los últimos años. Así también la automatización puede ir desde pocos pasos del proceso analítico hasta todo el trabajo del laboratorio ⁽²⁵⁾.

Automatización de la preparación de los especímenes

La automatización en la preparación de los especímenes se debe realizar antes las determinaciones analíticas, lo cual se conoce como fase pre analítica, es uno de los mecanismos operativos más importantes a los que se enfrentan los laboratorios clínicos ⁽²⁵⁾. Algunos de los componentes principales del sistema mecanizado para la manipulación de los especímenes antes de realizar la determinación analítica son:

- Unidad de entrada de especímenes.
- Centrífugas automáticas.
- Destaponador de tubos.

- Alicuotador.
- Taponador o sellador de tubos.
- Etiquetador.
- Clasificador⁽²⁵⁾

CALIDAD

Se define como el conjunto de características de un producto o servicio que le confiere la amplitud necesaria para satisfacer e incluso superar las necesidades y expectativas del cliente o usuario.

CONTROL DE CALIDAD

Es la parte de la gestión de la calidad orientada a examinar y conocer el grado de cumplimiento de los requisitos establecidos o requeridos de los procesos, de los productos o de los servicios del laboratorio⁽²⁶⁾. El control de calidad se realiza al final del proceso y por tanto, es de naturaleza reactiva. Es decir si los resultados del proceso no alcanzan los requisitos preestablecidos, se reacciona con acciones correctivas que logren su cumplimiento⁽²⁶⁾.

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACION

DISEÑO DE LA INVESTIGACION.

De campo: Se llama de campo porque es una investigación que se basa en hechos reales, ya que se realizaron actividades en contacto con los estudiantes participantes del proyecto, como las encuestas por medio de cuestionarios donde se va registrar datos para obtener resultados inequívocos.

TIPO DE INVESTIGACIÓN.

No experimental. Se llama no experimental porque no trabajamos con variables ya que no realizamos la comparación con ninguna otra institución educativa.

Descriptiva: Se llama descriptiva ya que trabajamos sobre realidades de hecho y su característica fundamental para poder mostrar una interpretación correcta de ciertos procedimientos, ya que nos basamos a la recolección de datos de estudio ya conocidos que únicamente se va comparar en relación a valores en nuestro medio.

COHORTE

Se trata de un estudio de corte trasversal, debido a que solo se realizara en una etapa de tiempo especifica sin ningún seguimiento previo.

Transversal: Porque la investigación se realizó en un periodo determinado, entre los meses Octubre 2017 – Marzo 2018.

CARÁCTER

Se trata de un estudio de carácter cuantitativo y cualitativo en donde se describió de manera numérica cada uno de los valores obtenidos en el análisis de las muestras sanguíneas y que luego serán comparadas con otros estudios similares para la obtención de datos estándares en nuestro medio.

DETERMINACIÓN DE LA POBLACIÓN Y MUESTRA

Población:

La población fue formada por 12 unidades educativas rurales del cantón Riobamba, lo que representa a 644 estudiantes de educación media, situadas en provincia de Chimborazo, Ecuador, según registros del Ministerio de Educación, Dirección Distrital

06D01, para el año 2018. Dicha población incluye todos los sostenimientos (Fiscales, Particulares y Fiscomisionales).

Criterios de inclusión: Se incluyeron los estudiantes que tuvieron los consentimientos informados firmados por el representante y voluntariamente, que comprenden entre 14 y 18 años de edad, se presentaron el día de la toma de muestra en ayunas y sin ingerir medicación, que fueron aparentemente sanos, no fumadores, ni estén en estado de embriagues y completaron correctamente la encuesta aplicada.

Criterios de exclusión: Se excluyeron los estudiantes que no presentaron el consentimiento informado, con edades mayores de 19 años y menores de 14 años, que no se presenten en ayunas el día de la toma de muestra o que se estén ingiriendo medicación, que sean aparentemente enfermos y no completan correctamente las encuestas.

Muestra:

Después de haber aplicado los criterios de inclusión y exclusión la muestra total final del número de estudiantes estuvo conformado por 163 de bachillerato de ambos sexos que comprenden entre 14 – 18 años de edad del cantón Riobamba, provincia de Chimborazo, Ecuador, según registros de Ministerio de Educación, Dirección distrital 06D01, para el año 2018.

Dentro de las instituciones se seleccionaron estudiantes que cumplieran con los siguientes requisitos:

- Estudiantes de entre primero hasta tercero de bachillerato.
- Edades entre 14 – 18 años.
- De ambos géneros.
- Finalmente estudiantes aparentemente sanos.

TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE LA INVESTIGACIÓN

- **Técnica:** Encuesta (Se aplicaron 33 ítems los cuales fueron mixtos, tanto abierto como cerrado)
- **Instrumento:** Cuestionario.
- **Técnica:** Técnicas de laboratorio (La técnica fue utilizada de la casa comercial Siemens)

- **Instrumento:** Matriz de resultados, equipo de bioquímica clínica (sistema Dimensión ® RxL Max®).

INSTRUMENTOS

Los instrumentos que se emplearon en el siguiente estudio fueron una encuesta adecuada y desarrollada en el análisis de datos: personales, familiares, educativos, relacionados al estilo de vida, hábitos alimenticios y factores socioeconómicos todo esto complementando con el estudio analítico de muestras biológicas para la determinación de los valores de bilirrubina y fosfatasa alcalina como aporte para el establecimiento de valores de referencia en estudiantes, además se incluyó la técnica de laboratorio de la casa comercial SIEMENS como documento para la determinación de analitos de bilirrubina y fosfatasa alcalina en suero sanguíneo.

PROCEDIMIENTOS

Para la obtención de datos fue necesario el permiso del Distrito de educación Chambo-Riobamba, una vez aprobado se procedió al dialogo con las diferentes autoridades de las instituciones educativas seleccionadas para establecer las fechas de inicio de recolección de datos y muestras a los estudiantes participantes. Después de realizar las encuestas se coordinó las fechas para la toma de muestra, todo esto se realizó previa organización con las autoridades de la institución educativa, luego de haber obtenido las muestras nos dirigimos a procesar de forma automatizada mediante el equipo sistema Dimensión ® RxL Max®, mediante el cual se realizó de forma automática el muestreo en el laboratorio del Hospital Provincial General Docente de Riobamba, adjunto a esto realizamos reuniones con los docentes, tutores y coordinadores a cargo del proyecto para las capacitaciones y demás afines, una vez finalizados los procesamientos de muestras se creó la base de datos para los resultados obtenidos, posteriormente realizamos análisis y discusiones pertinentes al proyecto de investigación desarrollado.

ANÁLISIS DE DATOS

Para la presente investigación se emplearon un sistema estadístico, específicamente el descriptivo, que se refiere a la selección de pacientes, recolección de información específica, análisis e interpretación de los resultados de acuerdo a la recopilación de datos del fenómeno en estudio, con la finalidad de realizar procesamientos analíticos de

muestras biológicas en población del sector rural, para la determinación de valores de referencia procesando y analizando mediante el software estadístico Excel 2013.

FLEBOTOMÍA

Rotular los tubos con el código del paciente explicando el procedimiento a realizar, sentar al paciente en una silla, colocar el torniquete 5cm por encima del pliegue, pedir al paciente que cierre su mano en puño, trazar la vena del paciente con tu dedo índice, desinfectar el área donde se va a extraer la muestra, dejar que el área se seque, introducir la aguja en la vena con bisel hacia arriba, dejar que el tubo se llene con la muestra suficiente para las pruebas, retirar el torniquete del brazo, sacar la aguja suavemente y con una torunda realizar una pequeña presión para evitar sangrado.

OBTENCIÓN DE SUERO SANGUÍNEO

Dejar que la muestra se coagule por 15 minutos a temperatura ambiente, centrifugar las muestras a 3500 rpm a 10 minutos, separar el suero sanguíneo para realizar las pruebas correspondientes.

Valores de referencia de bilirrubinas y fosfatasa alcalina según el inserto de la casa comercial "SIEMENS"

- **Bilirrubina total:** De 0.20 hasta 1.00 mg/dl.
- **Bilirrubina directa:** De 0.00 hasta 0.40 mg/dl.
- **Bilirrubina indirecta:** De 0.10 hasta 0.60 mg/ dl.
- **Fosfatasa alcalina:** De 46.0 hasta 116.0 UI/l.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la realización de la presente investigación participaron 163 estudiantes de edades comprendidas entre 14 a 18 años los cuales pertenecen a 12 unidades educativas del cantón Riobamba, los cuales fueron beneficiados con la entrega de resultados

Tabla 1: Análisis de datos de acuerdo al género

GÉNERO	CANTIDAD	PORCENTAJE
HOMBRES	76	46,63%
MUJERES	87	53,37%
TOTAL	163	100,00%

Fuente. Encuesta aplicada a los participantes del proyecto de investigación
Autores: Alex Aucancela y Andrés Méndez

Análisis:

En la tabla 1 de los 163 estudiantes participantes del proyecto, el 53,37 % correspondieron al género femenino y el 46,63 % al género masculino así lo demuestra la tabla 1, se eligió una población equitativa de participantes con respecto al género, puesto que permite tener una mejor perspectiva de la investigación.

Tabla 2: Análisis de datos de acuerdo a la edad

EDADES	NUMERO DE ESTUDIANTES	PORCENTAJE
14	17	10,43%
15	36	22,09%
16	35	21,47%
17	50	30,67%
18	25	15,34%
TOTAL	163	100,00%

Fuente. Encuesta aplicada a los participantes del proyecto de investigación
Autores: Alex Aucancela y Andrés Méndez

Análisis:

Según la tabla 2, la edad mayor de los estudiantes participantes del proyecto en primer lugar corresponde a 17 años (30,67%), seguida de 15 años (22,09 %), en tercer lugar se observa a los estudiantes que atraviesan los 16 años (21,47%) al momento del estudio. Los participantes de 18 años con un porcentaje de (15,34 %), y los participantes de 14 años representan el 10,43 % de la población de estudio.

Tabla 3: Clasificación de las concentraciones de bilirrubinas del grupo de estudio según los valores de referencia de los reactivos de SIEMENS

VALORES	BILIRRUBINA TOTAL (mg/dl)	BILIRRUBINA DIRECTA (mg/dl)	BILIRRUBINA INDIRECTA (mg/dl)
MAYOR	0,92	0,70	0,60
MENOR	0,20	0,05	0,10
MEDIA	0,54	0,16	0,40

Fuente. Encuesta aplicada a los participantes del proyecto de investigación
Autores: Alex Aucancela y Andrés Méndez

Análisis:

Como se puede observar en la tabla 3 en lo que se refiere a la Bilirrubina total su valor menor de 0,20 a mayor 0,92 mg/dl y una media de 0,54 mg/dl; seguida de la bilirrubina directa su valor menor de 0,05 a mayor 0,70 mg/dl y una media de 0,16 mg/dl. En lo que se refiere a la bilirrubina indirecta con valor menor de 0,10 a mayor 0,60 mg/dl y una media de 0,40 mg/dl.

Tabla 4: Clasificación de las concentraciones de fosfatasa alcalina del grupo de estudio según los valores de referencia de los reactivos de la casa comercial SIEMENS.

VALORES	Fosfatasa alcalina (UI/L)
MAYOR	188
MENOR	53
MEDIA	128,46

Fuente. Encuesta aplicada a los participantes del proyecto de investigación
Autores: Alex Aucancela y Andrés Méndez

Análisis:

En la tabla 4 podemos observar que los valores de fosfatasa alcalina los cuales se encuentran con un valor mayor de 188 UI/L, a un valor menor de 53 UI/L y obteniendo una media de 128,46 UI/L.

Tabla 5: Análisis de resultados de bilirrubinas.

BILIRRUBINA TOTAL		BILIRRUBINA DIRECTA		BILIRRUBINA INDIRECTA	
(mg/dl)	Estudiantes	(mg/dl)	Estudiantes	(mg/dl)	Estudiantes
0,20 -0,28	12	0,05 -0,13	106	0,14 - 0,20	10
0,29 - 0,37	22	0,14 - 0,21	22	0,21 - 0,27	17
0,38 -0,46	27	0,22 - 0,30	17	0,28 - 0,34	37
0,47 - 0,55	25	0,31 - 0,39	18	0,35 - 0,41	26
0,56 - 0,64	19			0,42 - 0,48	25
0,65 - 0,73	33			0,49 - 0,55	19
0,74 - 0,82	16			0,56 - 0,62	29
0,83 - 0,91	7				
0,92 - 1,00	2				

Fuente. Encuesta aplicada a los participantes del proyecto de investigación
Autores: Alex Aucancela y Andrés Méndez

Análisis:

De acuerdo con los resultados de bilirrubina total 33 estudiantes se encuentran con la mayor cantidad, los cuales estos valores están entre los rangos de 0,65 a 0,73 mg/dl y en menor cantidad 2 participantes se encuentran entre los rangos de 0,92 a 1 mg/dl. Mientras tanto que en la Bilirrubina directa de los participantes se pudo determinar que dentro de la mayor cantidad se obtuvo un valor de 106 estudiantes los cuales se encuentran entre los rangos de 0,05 a 0,13 mg/dl y con una menor cantidad 17 estudiantes se encuentran entre los rangos de 0,22 a 0,30 mg/dl. En cambio que los resultados de Bilirrubina Indirecta los participantes con una mayor cantidad son 52 estudiantes estos se encuentran en los rangos entre 137,5 a 154,3 mg/dl y en menor cantidad 2 estudiantes se encuentran entre los rangos de 171,3 a 188,1 mg/dl.

Discusión:

Se encontró estudios donde se pudo establecer valores de referencia de bilirrubinas de acuerdo a la investigación realizada en Perú por (Águila J. y Bartra J.), Se estableció que la bilirrubina total esta entre 0,6 a 1,2 mg/dl y bilirrubina directa entre 0,07 a 0,31 mg/dl⁽²⁷⁾. Lo cual es diferente a la investigación realizada en Cuenca por (Peñaloza M. y Vizñay J.) que establece valores de referencia en bilirrubina total entre 0,10 a 1,50 mg/dl, bilirrubina directa de entre 0,01 a 0,30 mg/dl y bilirrubina indirecta 0,00 a 1,10 mg/dl⁽²⁸⁾.

De acuerdo a nuestra investigación realizada en el cantón Riobamba se estableció valores de referencia (casa comercial siemens) en bilirrubina total entre 0,20 a 0,91 mg/dl y bilirrubina directa entre 0,05 a 0,38 mg/dl; bilirrubina indirecta 0,10 a 0,60 mg/dl, en el cual nuestro estudio se estableció que los 163 participantes se encuentran dentro de los parámetros normales.

Tabla 6: Análisis de resultados de fosfatasa alcalina

(UI/L)	Estudiantes
53 - 69,8	3
69,9 - 86,7	8
86,8 - 103,6	13
103,7 - 120,5	29
120,6 - 137,4	42
137,5 - 154,3	52
154,4 - 171,2	14
171,3 - 188,1	2

Fuente. Encuesta aplicada a los participantes del proyecto de investigación
Autores: Alex Aucancela y Andrés Méndez

Análisis:

De acuerdo con los resultados obtenidos de fosfatasa alcalina 52 estudiantes se encuentran con la mayor cantidad los cuales estos valores están entre los rangos de 137,5 a 154,3 UI/l y en menor cantidad 2 participantes se encuentran entre los rangos de 171,3 a 188,1 UI/l.

Discusión:

De acuerdo a la investigación realizada en cuenca por (Naula F. y Rosales S.) se estableció valores de referencia en fosfatasa alcalina va entre 112 a 344 UI/l ⁽²⁹⁾. En relación a nuestra investigación los de fosfatasa alcalina van entre 53 a 188 UI/l los cuales en comparación a nuestro estudio los valores hallados en nuestra población, son más disminuidos.

Tabla 7: Análisis de resultados de acuerdo a la varianza de bilirrubinas

	PROMEDIO REAL	VARIANZA	DESVIACIÓN ESTADAR	COEFICIENTE DE VARIACION	RANGO POR ENCIMA	RANGO POR DEBAJO	MEDIA
Bilirrubina Total	0,54	0,03	0,18	0,33	0,72	0,37	0,54
Bilirrubina Directa	0,16	0,01	0,11	0,72	0,26	0,04	0,16
Bilirrubina Indirecta	0,40	0,01	0,13	0,32	0,52	0,27	0,40

Fuente. Encuesta aplicada a los participantes del proyecto de investigación

Autores: Alex Aucancela y Andrés Méndez

Análisis:

La tabla 7 demuestra que según los resultados obtenidos de bilirrubina total está en un rango por encima de 0,72 y un rango por debajo de 0,37, dando así una varianza de 0,03 y una desviación estándar de 0,18. de acuerdo a las estadísticas planteadas tenemos el coeficiente de variación 0.33. Bilirrubina directa está en un rango por encima de 0,26 y un rango por debajo de 0,04 dando así una varianza de 0,01 y una desviación estándar de 0,11 y de acuerdo a las estadísticas planteadas tenemos el coeficiente de variación 0.72. Bilirrubina indirecta está en un rango por encima de 0,52 y un rango por debajo de 0,27 dando así una varianza de 0,01 y una desviación estándar de 0,13 y de acuerdo a las estadísticas planteadas tenemos el coeficiente de variación 0.32. El cual nos indica que tenemos un 95% de certeza de acuerdo a mis resultados ya que el coeficiente de variación toma valores entre 0 y 1.

Tabla 8: Análisis de resultados de acuerdo a la varianza de fosfatasa alcalina

PROMEDIO REAL	VARIANZA	DESVIACION ESTADAR	COEFICIENTE VARIACION	RANGO ENCIMA	RANGO DEBAJO	MEDIA
128,46	585,90	24,21	0,19	152,67	104,25	128,46

Fuente: Análisis de resultados de acuerdo a la varianza de fosfatasa alcalina

Elaborado: Alex Aucancela y Andrés Méndez

Análisis:

En la tabla 8 demuestra la fosfatasa alcalina que está en un rango por encima de 152,67 y un rango por debajo de 104,25 dando así una varianza de 585,90 y una desviación estándar de 24,21 y de acuerdo a las estadísticas planteadas tenemos el coeficiente de variación 0.19. El cual nos indica que tenemos un 95% de certeza de acuerdo a mis resultados ya que el coeficiente de variación toma valores entre 0 y 1.

CONCLUSIONES

Al culminar el presente trabajo de investigación y tomando como referencia los resultados obtenidos se puede establecer las siguientes conclusiones:

- Se determinaron valores de bilirrubinas y fosfatasa alcalina en 163 estudiantes de la zona rural aparentemente sana, en donde se obtuvo como resultado que la bilirrubina total, directa e indirecta se encontraron dentro de los valores normales con un 100% en su totalidad. A diferencia de la fosfatasa alcalina sus valores se encontraron en un valor mínimo de 55 UI/L a un valor máximo de 188 UI/L. Con los resultados obtenidos de nuestra base de datos nuestra investigación puede aportar al establecimiento de valores de referencia ya que se encuentra dentro de los valores normales para el perfil hepático.
- En esta investigación se logró comparar los valores de referencia obtenidos con otras investigaciones ya que se encuentran en una estrecha relación con estudios realizados a nivel nacional e internacional los mismos que no tienen mucha diferencia. Lo cual los valores obtenidos son aptos para este tipo de estudio.
- Se determinó el coeficiente de variación de los resultados obtenidos de ambos géneros tanto femenino como masculino de bilirrubina total que se encuentran con valores de 0,33 mg/dl, bilirrubina directa con 0,72 mg/dl y bilirrubina indirecta con 0,32 mg/dl. A diferencia de la fosfatasa alcalina con 0,19 UI/L lo cual el coeficiente de variación está dentro de los rangos establecidos para el aporte del establecimiento de valores de referencia.

RECOMENDACIONES

- Es necesario tener un adecuado transporte y manejo de muestras en las que se van a determinar valores de referencia así como bilirrubinas y fosfatasa alcalina, tomando en cuenta cada una de las indicaciones sugeridas por la casa comercial.
- Procurar aplicar correctamente la etapa pre analítica y de registros de datos de los pacientes en el sistema de registro del Hospital Provincial General Docente de Riobamba (apellidos, nombres, numero de cedula, fecha de nacimiento, edad) para poder tener acceso a la información cuando sea necesario.
- Es primordial ejecutar los correspondiente controles de calidad antes del procesamiento de las muestras en las que se van a determinar bilirrubina y fosfatasa alcalina con la finalidad de validar resultados confiables.
- Tomar en cuenta las recomendaciones del inserto de la casa comercial (SIEMENS) con respecto a interferencias, linealidad, tipo de muestra, etc. Para evitar posibles errores en el procesamiento de determinación de bilirrubina y Fosfatasa alcalina.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rodríguez BG, Blanco SR. Asegurameinto de la calidad analítica y norma ISO 17 025 en laboratorios clínicos y químicos. SciELO. 2001 Junio; XXII(1-2).
2. Rodriguez S MN. Guías de pediatría práctica basadas en la evidencia. 2nd ed. Colombia: Editorial médica internacional; 2009.
3. Metabolismo de la Bilirrubina. [Internet]. [citado 23 Nov 2017. Disponible en: http://informersalamanca.com/contenido/up/1353/anafouces-20161125170340/docs/T6_BQII.pdf.
4. Sánchez RJ, Soriano SE, Girona BR, Pérez MP, Viñets GC. ¿Por qué aumentan las fosfatasas alcalinas? ELSEVIER. 2002 MARZO; XXIX(4).
5. EcuRed. Fosfatasa alcalina. EcuRed. 2017 Noviembre.
6. Lee JSR. Body TC correlación RM. 1st ed. Madrid - España: Márban; 2008.
7. Espinosa Es. Fisiología de los aparatos y sistemas Cuenca: Gráficas Hernández; 2006.
8. Rodríguez C,R,SG,&PH. PREVALENCIA DE ICTERICIA NEONATAL PATOLÓGICA EN EL SERVICIO DE NEONATOLOGÍA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DR. ÁNGEL LARRALDE, VALENCIA ESTADO CARABOBO. VENEZUELA. FEBRERO 2012 - ABRIL 2012. [Internet]. Venezuela; 2012 [citado 10 Oct 2012.Disponible en: <http://servicio.bc.uc.edu.ve/fcs/avances/vol2n1/art06.pdf>
9. Bernard HJ. El laboratorio en el diagnóstico clínico. Veinte ed.: Marbán; 2005.
10. Metabolismo de la Bilirrubina. [Internet]. [citado 24 Nov 2017. Disponible en: <http://fhu.unse.edu.ar/carreras/obs/anatomo/metabili.pdf>.
11. GRAW H. Op.tic; 2006.
12. Soza A. Hepatitis Enfermedades del hígado. [Internet].; 2015. Disponible en: <http://hepatitis.cl/276/bilirrubina>.

13. VALTUEÑA JMP. La clínica y el laboratorio. 21st ed. BARCELONA ESPAÑA: ELSEVIER MASSON; 2011.
14. Burtis CA AE. Tietz textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1999.
15. Yogesh N AEMDS. Selective use of preoperative endoscopic retrograde cholangiopancreatography in the era of laparoscopic cholecystectomy. [Internet]. New Zealand; 2002. Disponible en:
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1445-2197.2002.02353.x/abstract>.
16. Henry JB. El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico Tomo 1. 20th ed.: Marban; 2005.
17. Fosfatasas alcalinas. [Internet]. [citado 25 Nov 2017. Disponible en:
http://www.wiener-lab.com.ar/VademecumDocumentos/Vademecum%20espanol/fosfatasas_alcalina_optimizada_sp.pdf.
18. Henry JB. El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico Tomo 1. 20th ed.: Marbán; 2005.
19. Vatulena JMP. La clínica y el laboratorio. 20th ed. Barcelona España: ELSEVIER MASSON; 2006.
20. BRANCO C, Haya. PJ. Osteoporosis y menopausia Madrid España: Editorial Médica Panamericana; 2004.
21. Bowers GN. A continuous spectrophotometric method for measuring the activity of serum alkaline phosphatase. 1966. Inserto de Técnica de Fosfatasa Alcalina.
22. SEQC. [Internet]. [citado 24 Nov 2017. Disponible en:
<http://www.labtestsonline.es/understanding/reference.html?idx=6>.
23. H WF. MANUAL MSD, versión para profesionales. [Internet]. [citado 24 Nov 2017. Disponible en:
<https://www.msmanuals.com/es-ec/professional/ap%C3%A9ndices/valores-normales-de-laboratorio/valores-normales-de-laboratorio>.

- 24.** Sánchez RM. Valores de referencia o valores de corte clínico: ¿qué criterio tomar en el laboratorio actual? Red de Revistas Científicas de América Latina, El Caribe, España y Portugal. 2007 Abril-Junio; XXXII(2).
- 25.** Buitrago JMgd. Técnicas y Métodos de Laboratorio Clínico. 3rd ed. Barcelona España: Elsevier Masson; 2010.
- 26.** D. FcM. Gestión de Calidad en el Laboratorio Clínico. 1st ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2005.
- 27.** J. ÁJB. Biblioteca digital - Dirección de Sistemas de Informática y Comunicación. [Internet]. Trujillo - Perú; 2012 [citado 28 Feb 2018. Disponible en:
<http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4062/Aguila%20Huaman%20Joyce%20Elizabeth.pdf?sequence=1>.
- 28.** J. PMV. Repositorio Universidad de Cuenca. [Internet].; 2010 [citado 28 Feb 2018. Disponible en:
<http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3856/1/TECL03.pdf>.
- 29.** S. NFR. Repositorio Universidad de Cuenca. [Internet].; 2010 [citado 28 Feb 2018. Disponible en:
<http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3857/1/TECL04.pdf>.
- 30.** Henry JB. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 20th ed. Philadelphia : W.B. Saunders Company; 2007.
- 31.** Navarrete L. Repositorio UTA. [Internet].; 2016 [citado 26 Feb 2018. Disponible en:
<http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/24273/2/L%C3%B3pez%20Navarrete%20%C3%81ngel%20Nolberto.pdf>.

Anexo N°1: Inserto de la técnica de bilirrubina total

SIEMENS

Dimension® clinical chemistry system

Flex® reagent cartridge

[REF] DF167

TBI

Consulte las secciones sombreadas: Información actualizada desde la versión de 2013-07. Fecha de la edición 2016-02-26

Proceso del análisis

El sistema Dimension® realiza de manera automática el muestreo, la dispensación de reactivos, la mezcla, el procesamiento y la impresión de resultados. Para más detalles sobre este proceso, consulte el Manual del usuario del sistema Dimension®.

c. El recipiente de la muestra debe tener la cantidad suficiente para contener el volumen de muestra necesario más el volumen muerto. No se requiere el llenado exacto del recipiente.

Condiciones del análisis

Volumen de la muestra	10 µL
Volumen del reactivo 1	250 µL
Volumen del reactivo 2	47 µL
Temperatura	37 °C
Longitud de onda	540, 700 nm
Tipo de medición	Bicromática de punto final

Calibración

Intervalo del ensayo: 0.1 – 25.0 mg/dL [2 – 428 µmol/L]^d
 Material de calibración: Calibrador de TBI/DBI, ref. DC167
 Esquema de calibración: 3 niveles, n = 3
 Unidades: mg/dL [µmol/L]
 (mg/dL x 17.1) = [µmol/L]

Niveles habituales de calibración: 0.00, 10.00, 25.00 mg/dL
 Frecuencia de calibración: 0, 17.1, 42.8 µmol/L
 Se requiere una nueva calibración: Cada 90 días para cualquier lote

- Para cada lote nuevo de cartuchos de reactivos Flex®
- Después de la realización de importantes tareas de mantenimiento o servicio, si los resultados de control de calidad así lo indican
- Tal como se indica en los procedimientos de control de calidad del laboratorio
- Cuando es obligatorio según las regulaciones gubernamentales

Coefficientes asignados: C₁ = 0.00
 C₂ = 0.273

Nota: El nivel 1 del calibrador para TBI no se incluye en el embalaje del calibrador de TBI/DBI. Diluyente agua purificada (ref. 710615901) o agua de grado reactivo como calibrador de nivel 1 para el método TBI.

^d Las unidades del sistema internacional de Unidades [unidades SI] se indican entre corchetes.

Principios del procedimiento: El ácido sulfanílico diazotizado se forma mediante la combinación de nitrato de sodio y ácido sulfanílico en un pH bajo. La bilirrubina (no conjugada) de la muestra se solubiliza en una dilución de cafeína/benzoato/acetato/EDTA. Después de la adición del ácido sulfanílico diazotizado, la bilirrubina solubilizada, incluidas las bilirrubinas conjugadas (mono y diglucuronidos) y la forma delta* (biliproteína-bilirrubina covalentemente ligada a la albumina), se transforma en diazobilirrubina, un cromóforo rojo que representa la bilirrubina total que absorbe a 540 nm y se mide mediante una técnica de punto final bicromática (540, 700 nm). Se utiliza una corrección de blanco de muestra.

Bilirrubina solubilizada + ácido sulfanílico diazotizado → Cromóforo rojo (absorbe a 540 nm)

Reactivos

Pocillos	Forma	Ingrediente	Concentración ^a
1, 4 - 6	Líquida	Tempón de acetato	
		Cafeína	158 mM
		Benzoato sódico	321 mM
		EDTA disodio	2.57 mM
2	Líquida	Ácido sulfanílico	25.89 mM
		Ácido hidrociónico	132 mM
3	Líquida	Nitrato sódico	72.5 mM

a. Los pocillos están numerados consecutivamente desde el extremo ancho del cartucho.
 b. Valor normal por pocillo en un cartucho.

Riesgos y seguridad

Las fichas de datos de seguridad (MSDS/SDS) están disponibles en siemens.com/healthcare

Precautiones: Las cubetas usadas contienen fluidos corporales de origen humano; manipular con el cuidado apropiado para evitar el contacto con la piel o la ingestión.

Para uso diagnóstico in vitro

Preparación del reactivo: Todos los reactivos son líquidos y están listos para su uso.

Conservar a: 2 – 8 °C

Caducidad: Consulte en el envase la fecha de caducidad de los cartuchos de reactivos individuales sin abrir. En el instrumento, los pocillos sellados son estables durante 30 días.

Estabilidad de los pocillos abiertos: 5 días para los pocillos 1, 4 – 6
 3 días para el pocillo 3.
 15 días para el pocillo 2 (ácido sulfanílico diazotizado formado por la adición automática de nitrato de sodio del pocillo 3)

Recogida de muestras y manipulación: Las muestras de suero, plasma con heparina de lio y EDTA pueden recogerse de la manera habitual.^{5, 6} Siga las instrucciones de uso y procesamiento suministradas con el dispositivo de recogida de muestras.⁷

Las muestras de plasma y suero se deben separar de las células en las 2 horas posteriores a la venopunción.⁸

Las muestras deben estar libres de partículas. Con el fin de evitar la aparición de fibrina en las muestras de suero, debe ocurrir una completa formación del coágulo antes de la centrifugación.⁹ El tiempo de coagulación puede incrementarse debido a una terapia anticoagulante o trombolítica.

La bilirrubina es fotosensible. Se debe tener especial cuidado en proteger la muestra de la luz del día y la luz fluorescente para evitar la fotodegradación. Las muestras separadas son estables durante 8 horas a temperatura ambiente, 7 días a 2 – 8 °C o 6 meses si se congelan a -20 °C o menos. Las muestras deben protegerse de la luz si se almacenan durante más de 8 horas.⁴

Procedimiento

Materiales suministrados

Cartucho de reactivos Flex® de TBI, ref. DF167

Materiales necesarios pero no suministrados

Calibrador de TBI/DBI, ref. DC167
 Materiales de control de calidad
 Diluyente agua purificada (ref. 710615901) o agua de grado reactivo

Control de calidad

Al menos una vez por día de uso, analice dos niveles de un material de control de calidad (CC) con concentraciones conocidas de bilirrubina total. Siga los procedimientos internos de CC de su laboratorio si los resultados obtenidos no se encuentran dentro de los límites aceptables.

Resultados: El instrumento calcula e imprime automáticamente la concentración de bilirrubina total en mg/dL [µmol/L] según el esquema de cálculo ilustrado en el Manual del usuario del sistema Dimension®.

Los resultados de esta prueba deberán interpretarse siempre de acuerdo con la historia clínica del paciente, la sintomatología clínica y otras observaciones.

Rango de medición analítico (AMR): 0.1 – 25.0 mg/dL [2 – 428 µmol/L]

Se trata del rango de valores del analito que puede medirse directamente a partir de la muestra sin requerir dilución ni tratamiento previo que no sea parte del proceso analítico habitual y es equivalente al intervalo del ensayo.

Las muestras con resultados que superen los 25.0 mg/dL [428 µmol/L] deben repetirse con dilución.

Dilución manual: Diluya con agua de grado reactivo 1:4 (1 parte de muestra con 3 parte de agua de grado reactivo) para obtener resultados dentro del intervalo de ensayo. Introduzca el factor de dilución (4). Repita el análisis. **La lectura resultante se corregirá en función de la dilución.**

Autodilución (AD): El volumen de muestra de autodilución recomendado es de 5 µL para suero y plasma. Consulte el Manual del usuario del sistema Dimension®.

Las muestras con resultados inferiores a 0.1 mg/dL [2 µmol/L] deberán registrarse como "inferiores a 0.1 mg/dL [2 µmol/L]".

Limitaciones del procedimiento

El sistema de informes del instrumento contiene mensajes de error para avisar al usuario de fallos específicos de funcionamiento. Cualquier informe con dichos mensajes de error debe ser conservado para seguimiento. Consulte el Manual del usuario del sistema Dimension®.

Existe la posibilidad de un funcionamiento incorrecto del sistema si se obtiene la siguiente precisión en 5 pruebas consecutivas:

Concentración de TBI	DE
1.1 mg/dL [19 µmol/L]	> 0.03 mg/dL [0.5 µmol/L]
18.8 mg/dL [322 µmol/L]	> 0.56 mg/dL [10 µmol/L]

Sustancias que causan interferencia

Se evaluó la presencia de sustancias interferentes en el método TBI según la directriz EP7-A del CLSI/NCCLS.¹⁰ La deriva es la diferencia de resultados entre la muestra de control (sin el interferente) y la muestra analizada (que contiene el interferente) expresada en mg/dL [µmol/L]. Se considera interferencia una deriva superior al 10%.

SIEMENS

REF DF125

Dimension® clinical chemistry system

Flex® reagent cartridge

DBI

Consulte las secciones sombreadas. Información actualizada desde la versión de 2013-07.

Fecha de la edición 2016-02-26

Bilirrubina Directa

Indicaciones: El método DBI se utiliza en el sistema de química clínica Dimension® para la determinación directa de la bilirrubina conjugada (β y γ-bilirrubina) en suero y plasma humano. Las mediciones de bilirrubina directa se utilizan en el diagnóstico y tratamiento de diversas hepatitis, ictericias, hemolíticas y metabólicas, entre ellas la hepatitis y la enfermedad de la vesícula biliar.

Resumen: Existen al menos cuatro fracciones de bilirrubina diferentes que componen la bilirrubina total en suero. Las fracciones de reacción directa son la monobilirrubina y la bilirrubina diconjugada (β- y γ-bilirrubina) y la bilirrubina delta (δ-bilirrubina), que está fuertemente unida a la albúmina. La bilirrubina delta (δ-bilirrubina) no es soluble en agua y sólo reacciona después de la adición de un acelerador como la cafeína.¹ El método DBI es una modificación del método de referencia Doumas,² que es una modificación del método diazo descrito por Jendrasik y Graf en 1938.³

Principios del procedimiento: El ácido sulfanílico diazotizado se forma mediante la combinación de ácido sulfanílico y ácido sulfanílico en un pH bajo. La muestra se diluye en 0,386 M NaCl. Se forma una lectura en un fotómetro por absorción de luz por el colorante formado. Después de la adición del ácido sulfanílico diazotizado, la bilirrubina conjugada se convierte en disazo bilirrubina, un cromóforo rojo que absorbe a 540 nm y se mide utilizando una técnica de punto final bicromática (540, 700 nm).



Reactivos

Pocillos*	Forma	Ingrediente	Concentración [†]
1-8	Vacío		
1	Líquido	NaCl	0,386 M
2	Líquido	Ácido sulfanílico	500 mM
3-8	Líquido	Ácido sulfanílico	100 mM

* Los pocillos 1-8 están sellados y no se deben abrir.
 † Las concentraciones de los reactivos se refieren a la solución de reactivos.
 ‡ El ácido sulfanílico diazotizado se genera in situ.

Riesgos y seguridad

Las fichas de seguridad (MSDS/SDS) están disponibles en siemens.com/healthcare

Precauciones: Las cubetas y cubiletes usados contienen líquidos corporales humanos; manipular con la atención adecuada para evitar la ingestión y el contacto con la piel.

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Preparación del reactivo: Todos los reactivos son líquidos y están listos para su uso.

Conservar a: 2 - 8 °C

Caducidad: Consulte en el envase la fecha de caducidad de los cartuchos de reactivos individuales sin abrir. En el instrumento, los pocillos sellados son estables durante 30 días.

Estabilidad de los pocillos abiertos: 2 días para los pocillos 1 - 4 (una vez preparado el ácido sulfanílico diazotizado)
 30 días para los pocillos 5 - 8

Recogida de muestras y manipulación: Las muestras de suero, plasma con heparina de litio y EDTA pueden recogerse de la manera habitual.^{4,5}

Siga las instrucciones de uso y procesamiento suministradas con el dispositivo de recogida de muestras.⁶

Las muestras de plasma y suero se deben separar de las células en las 2 horas posteriores a la venopunción.⁶

Las muestras deben estar libres de partículas. Con el fin de evitar la aparición de fibrina en las muestras de suero, debe ocurrir una completa formación del coágulo antes de la centrifugación.⁶ El tiempo de coagulación puede incrementarse debido a una terapia anticoagulante o trombolítica.

La bilirrubina es fotosensible. Se debe tener especial cuidado en proteger la muestra de la luz del día y la luz fluorescente para evitar la fotodegradación. Las muestras separadas son estables durante 8 horas a temperatura ambiente, 7 días a 2 - 8 °C o 6 meses si se congelan a -20 °C o menos. Las muestras deben protegerse de la luz si se almacenan durante más de 8 horas.⁷

La hemólisis puede disminuir los resultados del DBI. Siga los procedimientos de su laboratorio para registrar los resultados cuando se haya hemolizado la muestra.

Procedimiento

Materiales suministrados

Cartucho de reactivos Flex® de DBI, ref. DF125

Materiales necesarios pero no suministrados

Calibrador de TBI/DBI, ref. DC167
 Materiales de control de calidad
 Diluyente agua purificada (ref. 710615901) o agua de grado reactivo

Proceso del análisis

El sistema Dimension® realiza de manera automática el muestreo,¹ la preparación de reactivos, la lectura, el procesamiento y la impresión de resultados. Para más detalles sobre este proceso, consulte el Manual del usuario del sistema Dimension®.

4. El recipiente de la muestra debe tener la cantidad suficiente para contener el volumen de muestra necesario más el volumen muerto. No se requiere el llenado exacto del recipiente.

Condiciones del análisis

	Cubeta 1
Volumen de la muestra	10 µL
Volumen del reactivo 1	25 µL
Volumen del reactivo 2	50 µL
Temperatura	37 °C
Longitud de onda	540, 700 nm
Tipo de medición	Bicromática de punto final

Calibración

Intervalo del ensayo 0,05 - 16,0 mg/dL [0,86 - 274 µmol/L][†]
 Material de calibración Calibrador de TBI/DBI, ref. DC167
 Esquema de calibración 3 niveles, n = 3
 Unidades mg/dL [µmol/L]
 (mg/dL x 17,1) = [µmol/L]

Niveles habituales de calibración 0,0, 7,0, 17,5 mg/dL [0, 120, 299 µmol/L]
 Frecuencia de calibración Cada 90 días para cualquier lote
 Se requiere una nueva calibración

- Para cada lote nuevo de cartuchos de reactivos Flex®
- Después de la realización de importantes tareas de mantenimiento o servicio, si los resultados de control de calidad así lo indican
- Tal como se indica en los procedimientos de control de calidad del laboratorio
- Cuando se disponga según las regulaciones gubernamentales

Coefficientes asignados C₁ 0,96
 C₂ 0,075

9. Las unidades del Sistema Internacional de Unidades [unidades SI] se indican entre corchetes.

Nota: El nivel 1 del calibrador para DBI no se incluye en el envase del calibrador de TBI/DBI. Diluyente agua purificada (ref. 710615901) o agua de grado reactivo como calibrador de nivel 1 para el método DBI.

Control de calidad

Al menos una vez por día de uso, analice dos niveles de un material de control de calidad (CC) con concentraciones conocidas de bilirrubina directa. Siga los procedimientos internos de CC de su laboratorio si los resultados obtenidos no se encuentran dentro de los límites aceptables.

Resultados: El instrumento calcula e imprime automáticamente la concentración de bilirrubina directa en mg/dL [µmol/L] según el esquema de cálculo ilustrado en el Manual del usuario del sistema Dimension®.

Los resultados de esta prueba deberán interpretarse siempre de acuerdo con la historia clínica del paciente, la sintomatología clínica y otras observaciones.

Rango de medición analítico (AMR): 0,05 - 16,0 mg/dL [0,86 - 274 µmol/L]

Se trata del rango de valores del analito que puede medirse directamente a partir de la muestra sin requerir dilución ni tratamiento previo que no sea parte del proceso analítico habitual y es equivalente al intervalo del ensayo.

Las muestras con resultados que superen los 16,0 mg/dL [274 µmol/L] deben repetirse con dilución.

Dilución manual: Diluya con agua de grado reactivo 1:2 (1 parte de muestra con 1 parte de agua de grado reactivo) para obtener resultados dentro del intervalo de ensayo. Introdúzale el factor de dilución (2). Repita el análisis. La lectura resultante se corregirá en función de la dilución.

Autodilución (AD): El volumen de muestra de autodilución recomendado es de 5 µL para suero y plasma. Consulte el Manual del usuario del sistema Dimension®.

Los resultados inferiores a 0,05 mg/dL [0,86 µmol/L] deben registrarse como "inferiores a 0,05 mg/dL [0,86 µmol/L]".

Limitaciones del procedimiento

El sistema de informes del instrumento contiene mensajes de error para avisar al usuario de fallos específicos de funcionamiento. Cualquier informe con dichos mensajes de error debe ser conservado para seguimiento. Consulte el Manual del usuario del sistema Dimension®.

Existe la posibilidad de un funcionamiento incorrecto del sistema si se obtiene la siguiente precisión en 5 pruebas consecutivas:

Concentración de DBI	DE
0,6 mg/dL [10,3 µmol/L]	>0,06 mg/dL [1,0 µmol/L]
16,0 mg/dL [287 µmol/L]	>0,34 mg/dL [5,8 µmol/L]

Anexo N°3: Inserto de la técnica de fosfatasa alcalina

SIEMENS

REF DF150

Dimension® clinical chemistry system

Flex® reagent cartridge

ALPI

Consulte las secciones sombreadas: información actualizada desde la versión de 2012-09.

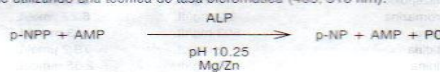
Fecha de la edición 2015-01-30

Fosfatasa alcalina

Uso previsto: El método ALPI es una prueba de diagnóstico *in vitro* para la determinación cuantitativa de la fosfatasa alcalina en suero y plasma humanos en el sistema de química clínica Dimension®. Las mediciones de fosfatasa alcalina o sus isoenzimas se utilizan en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades hepáticas, óseas, paratiroideas e intestinales.

Resumen: El método Dimension® ALPI se basa en el procedimiento de referencia principal para la medición de la actividad catalítica de la fosfatasa alcalina a 37 °C, tal y como describe la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC). El método de fosfatasa alcalina está basado en un procedimiento publicado por Bowers y McComb¹ y revisado más recientemente por Ref.² Este método responde a todas las isoenzimas de la fosfatasa alcalina del suero humano.


Principios del procedimiento: La fosfatasa alcalina cataliza la transfosforilación del p-nitrofenilfosfato (p-NPP) a p-nitrofenol (p-NP) en presencia del tampón de transfosforilación, 2-amino-2-metil-1-propanol (AMP). La reacción se mejora mediante el uso de iones de magnesio y cinc. El cambio en la absorbancia a 405 nm debido a la formación de p-NP es directamente proporcional a la actividad de ALP, ya que los demás reactivos están presentes en cantidades que no afectan a la tasa y se mide utilizando una técnica de tasa bicromática (405, 510 nm).



Reactivos	Pocillos*	Forma	Ingrediente	Concentración ^b
1 - 6 (Reactivo 1)	Líquido	2-amino-2-metil-1-propanol (AMP)	3.0 M	8.0 mmol/L
		Acetato de magnesio	4.0 mmol/L	8.0 mmol/L
		Sulfato de zinc	4.0 mmol/L	8.0 mmol/L
		HEDTA	8.0 mmol/L	
7 - 8 (Reactivo 2)	Líquido	Tampón de p-NPP		101.6 mmol/L

a. Los pocillos están numerados consecutivamente desde el extremo ancho del cartucho.
b. Valor nominal final por pocillo en un cartucho.

Riesgos y seguridad:



H319, H315, H412
P280, P273, P305 + P351 + P338, P501

¡Advertencia!
Provoca irritación ocular grave. Provoca irritación cutánea. Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. Evitar su liberación al medio ambiente. EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Eliminar el contenido y el recipiente de acuerdo con las normativas locales, regionales y nacionales.

Contiene: 2-amino-2-metil-1-propanol, Ácido sulfúrico, Sal de zinc, Heptahidrato

Las fichas de datos de seguridad (MSDS/SDS) están disponibles en www.siemens.com/diagnostics

Precauciones: Las cubetas usadas contienen fluidos corporales humanos, por lo que deben manipularse con cuidado para evitar la ingestión o el contacto con la piel.

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Preparación del reactivo: Todos los reactivos son líquidos y están listos para su uso.

Conservar a: 2 - 8 °C.
Proteja de la luz después de su apertura.

Caducidad: Consulte en el envase la fecha de caducidad de los cartuchos de reactivos individuales sin abrir. En el instrumento, los pocillos sellados son estables durante 30 días.

Estabilidad de los pocillos abiertos: 2 días para los pocillos 1 - 6
4 días para los pocillos 7 - 8

Recogida de muestras y manipulación:
Tipos de muestras recomendadas: suero y plasma (heparina de litio).

Para recoger y almacenar las muestras de suero y plasma que se desea analizar con este método se pueden seguir los procedimientos normales. Evite un contacto prolongado con los glóbulos rojos separados durante la preparación de las muestras de suero o plasma.

Siga las instrucciones de uso y procesamiento suministradas con el dispositivo de recogida de muestras.

Para el suero: Antes de la centrifugación, debe producirse la formación completa del coágulo. El suero o el plasma deben separarse físicamente de las células lo antes posible, con un límite máximo de dos horas desde el momento de la obtención de la muestra.

Las muestras son estables durante 8 horas a temperatura ambiente, 7 días a 2 - 8 °C y 6 meses si se congelan a -20 °C o menos.³ Evite congelar y descongelar las muestras varias veces. Las muestras descongeladas que presenten un aspecto turbio después de su descongelación deberán aclararse mediante centrifugación antes de analizarlas.

La información sobre la manipulación y el almacenamiento de las muestras se proporciona con fines orientativos; sin embargo, los usuarios pueden validar sus propios procedimientos de manipulación y almacenamiento de muestras de pacientes.

Procedimiento

Materiales suministrados

Cartucho de reactivos ALPI Flex®, ref. DF150

Materiales necesarios pero no suministrados

ALPI CAL, ref. DC150

Diluyente enzimático, ref. 790035901

Materiales de control de calidad

Proceso del análisis

El sistema de química clínica Dimension® realiza de manera automática el muestreo,⁴ la dispensación de reactivos, la mezcla y el procesamiento. Para más detalles sobre este proceso, consulte el Manual del usuario del sistema Dimension®.

c. El recipiente de la muestra debe tener la cantidad suficiente para contener el volumen de muestra necesario más el volumen muerto. No se requiere el llenado exacto del recipiente.

Condiciones del análisis

Volumen de muestra (dispensado en la cubeta)	7 µL
Volumen del reactivo 1	90 µL
Volumen del reactivo 2	57 µL
Volumen de diluyente	206 µL
Temperatura	37 °C
Tiempo de reacción	7.2 minutos
Longitud de onda	405 y 510 nm
Tipo de medición	Tasa bicromática

Calibración

Intervalo de ensayo	10 - 1000 U/L [0.17 - 16.70 µkat/L] ⁵
Material de calibración	Dimension® ALPI CAL, ref. DC150
Esquema de calibración	Tres niveles (n = 3)
Unidades	U/L (µkat/L) (U/L x 0.0167) = [µkat/L]

Niveles habituales de calibración:
Nivel 1: 0 U/L [0.00 µkat/L]
Nivel 2: 500 U/L [8.35 µkat/L]
Nivel 3: 1000 U/L [16.70 µkat/L]

Frecuencia de calibración: Cada 90 días para cualquier lote

- Se requiere una nueva calibración:
- Para cada lote nuevo de cartuchos de reactivos Flex®.
 - Después de la realización de importantes tareas de mantenimiento o servicio, si los resultados de control de calidad así lo indican.
 - Tal como se indica en los procedimientos de control de calidad del laboratorio.
 - Cuando es obligatorio según las regulaciones gubernamentales.

Coefficientes asignados:
C₀: 0.000
C₁: 1.000

d. Las unidades del Sistema Internacional de Unidades [unidades SI] se indican entre corchetes.

Control de calidad

Siga las regulaciones gubernamentales o los requisitos de acreditación relativos a la frecuencia de control de calidad. Al menos, analice una vez por día de uso, analice dos niveles de un material de control de calidad (CC) con la actividad conocida de la fosfatasa alcalina. Si los procedimientos internos de CC de su laboratorio si los resultados obtenidos no se encuentran dentro de los límites aceptables.

Resultados: El instrumento calcula la actividad de fosfatasa alcalina en U/L [µkat/L] según el esquema de cálculo ilustrado en el Manual del usuario del sistema Dimension®.

Los resultados de esta prueba deberán interpretarse siempre de acuerdo con la historia clínica del paciente, la sintomatología clínica y otras observaciones.

Rango de medición analítico (AMR): 10 - 1000 U/L [0.17 - 16.70 µkat/L]

Se trata del intervalo de valores de análisis que puede medirse directamente de la muestra sin requerir dilución ni tratamiento previo que no sea parte del proceso analítico habitual, y es equivalente al intervalo del ensayo.

- Las muestras cuyos resultados superen los 1000 U/L [16.70 µkat/L] se registrarán como "superiores al intervalo del ensayo" y deben repetirse con dilución.

Autodilución (AD): El volumen de muestra para autodilución es de 3 µL (factor de dilución = 2.3) para suero y plasma. Consulte el Manual del usuario del sistema Dimension®.

Dilución manual: Los resultados que superen los 1000 U/L [16.70 µkat/L] deben repetirse tras diluir la muestra con diluyente enzimático (ref. 790035901) o equivalente para obtener una muestra dentro del intervalo del ensayo.⁶ Introduzca el factor de dilución. Repita el análisis. La lectura resultante se corregirá en función de la dilución.

- Las muestras con resultados inferiores a 10 U/L [0.17 µkat/L] deberán registrarse como "inferiores a 10 U/L [0.17 µkat/L]".
- e. Las muestras no deben diluirse a una actividad final inferior a 200 U/L [3.34 µkat/L].

Anexo N°4: Capacitación y aplicación de encuestas a los estudiantes beneficiarios del proyecto de investigación



Fuente: Fotografía tomada por los investigadores en la Unidad Educativa Daniel León Borja.

Anexo N°5: Toma de signos vitales, medidas de peso, talla y medidas antropométricas



Fuente: Fotografía tomada por los investigadores en las Unidades Educativas rurales del cantón Riobamba.

Anexo N°5: Toma y procesamiento de muestra e ingreso datos al sistema del Hospital Provincial Docente de Riobamba de la Unidad Educativa Daniel León Borja



Fuente: Fotografía tomada por los investigadores en las Unidades Educativas rurales del cantón Riobamba.

Anexo N°6: Estudiantes beneficiarios del proyecto de investigación



Fuente: Fotografía tomada por los investigadores en las Unidades Educativas rurales del cantón Riobamba.

Anexos N°7: Encuesta aplicada a los estudiantes de la Unidades Educativas



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

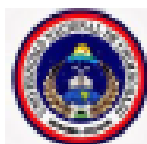
PROPUESTA DEL PROYECTO: "ESTUDIOS ANALÍTICOS DE MUESTRAS BIOLÓGICAS EN ESTUDIANTES DE UNIDADES EDUCATIVAS PARA LA DETERMINACIÓN DE VALORES DE REFERENCIA COMO SOPORTE AL DIAGNÓSTICO CLÍNICO, EN CANTONES DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO, ECUADOR"

ENCUESTA

Código N°:

Sr. Usuario: Le invitamos a contestar de manera completa y con el máximo de objetividad posible la presente encuesta. La información recogida en este documento es estrictamente confidencial así como también es de uso exclusivo para fines académicos que será utilizado como base de datos para la propuesta del proyecto de investigación: "Estudios analíticos de muestras biológicas en estudiantes de Unidades Educativas para la determinación de los valores de referencia como soporte al diagnóstico clínico en Cantones de la Provincia de Chimborazo, Ecuador". Agradecemos su participación.

1. Nombre:		2. Sexo: F ___ M ___	3. Edad:	4. N° Teléfono:			
5. Colegio:		6. Tipo de institución (sostenimiento): Fiscal ___ Particular ___ Fiscomisional ___		7. Zona INEC: Urbano ___ Rural ___			
8. N° Hermanos:	9. Tipo de sangre: O- ___ O+ ___ A- ___ A+ ___ B- ___ B+ ___ AB- ___ AB+ ___			10. Tipo de vivienda: Casa ___ Departamento ___ Casa de campo ___ otro: _____			
1. ¿Practicas algún deporte?: Si ___ No: ___ Indique : Fútbol ___ Básquet ___ Natación ___ Voleibol ___ Gimnasio ___ Caminatas ___ Bicicleta ___ Patinaje ___ Otro: _____ Horas/semana: ___		13. Desayuna en: Casa ___ Colegio ___ 14. ¿Usas el Bar del colegio?: Siempre ___ A veces ___ Nunca ___ 15. Colación o refrigerio (Media mañana): Sí ___ No ___ 16. Almuerza: Casa ___ Fuera de casa ___ Sólo ___ Acompañado ___		19. Horas de sueño nocturno: ___ 20. Horas TV/día ___ 21. Horas telf./día ___ 22. Horas video juego/día ___ 23. Horas estudio/día ___ 24. Generalmente, ¿Cómo te vas al colegio?: Caminando ___ ¿Tiempo que tardas caminando? ___ Transporte ___ Privado ___ Público ___ Te lleva un familiar y/o amigo ___ 25. El agua que consumes es: (puedes marcar varias opciones) Embotellada ___ Filtrada ___ Hervida ___ Llave ___ Purificada ___ Otro: _____		26. ¿Vives con papá y mamá?: Si ___ No ___ ¿Con quién? _____ 27. ¿Cuántos viven en casa?: _____ 28. ¿Mamá trabaja? _____ 29. ¿Papá trabaja? _____ 30. ¿Lavas las manos antes de comer?: Siempre ___ A veces ___ Nunca ___ 31. ¿Lavas las manos después de ir al baño?: Siempre ___ A veces ___ Nunca ___	
12. Más o menos, ¿Cuánto es el ingreso mensual en tu casa? \$375USD: ___ \$375USD-\$750USD ___ \$750USD-\$1125USD ___ \$1125USD-\$1500USD ___ \$1500USD-\$1870USD ___ \$1870USD-\$2250USD ___ Más de \$2250USD ___		17. Colación (Media tarde): Sí ___ No ___ 18. Merienda (Cena): Casa ___ Fuera de casa ___ Sólo ___ Acompañado: _____					



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLOGICO

Alimentos	Frecuencia									
	Nunca	Veces/día			Veces/semana			Veces/mes		
		1-2	3-4	Más de 4	1-3	3-6	Más de 6	1-3	3-6	Más de 6
Bebidas gaseosas										
Bebidas alcohólicas										
Aceite										
Mantequilla										
Frutos secos										
Pizza										
Hamburguesa										
Salchi papa										
Salchi carne										
Cevichochos										
Fritada										
Hot dog										
Helados										
Cereales										
Pan blanco										
Pan integral										
Frutas										
Granos										
Harinas refinadas										
Sal										
Yogurt										
Mermeladas										
Sopas										
Otro:										

Muchas Gracias por su colaboración.

Para ser llenado por el personal de salud

34. MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS	
Circunferencia de cintura	
Circunferencia de cadera	
Circunferencia de cráneo	
Circunferencia nrislo	
Circunferencia brazo	
Talla	
Peso	
Largo mano	
35. MEDIDAS CARDIOVASCULARES	
Tensión arterial sistólica	
Tensión arterial diastólica	
Frecuencia cardíaca (en reposo)	

Encuestador(a):

Nombres y Apellidos:	Fecha:	Firma:
----------------------	--------	--------

Anexo N°8: Consentimiento Informado



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO
UNIDADES EDUCATIVAS-CANTÓN RIOBAMBA



PROPUESTA DEL PROYECTO: "ESTUDIOS ANALÍTICOS DE MUESTRAS BIOLÓGICAS EN ESTUDIANTES DE UNIDADES EDUCATIVAS PARA LA DETERMINACIÓN DE VALORES DE REFERENCIA COMO SOPORTE AL DIAGNÓSTICO CLÍNICO, EN CANTONES DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO, ECUADOR"

AUTORIZACIÓN CONSENTIMIENTO INFORMADO

TOMA Y RECOLECCIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS PARA ANÁLISIS DE LABORATORIO CLÍNICO

A. DATOS DE IDENTIFICACIÓN DEL ESTUDIANTE

NOMBRES Y APELLIDOS: _____ N° CÉDULA: _____

CURSO DE ESTUDIO: _____ PARALELO: _____ N° TELEFÓNICO: _____

B. EXPLICACIÓN DEL PROCEDIMIENTO

El procedimiento va a consistir en la recolección de muestras de heces y orina, y la toma de una muestra de sangre del antebrazo de su representado, siguiendo todas las normas de bioseguridad. Las muestras biológicas serán recolectadas en recipientes adecuados, debidamente codificadas y transportadas para su posterior análisis en los Laboratorios de la Facultad de Ciencias de la Salud-Unach. Los resultados obtenidos de los análisis de laboratorio, certificados y firmados por profesionales especialistas en el área, serán entregados como garantía del trabajo desarrollado. De existir algún resultado fuera de los valores normales se le informará a usted con especial atención, para que tome en cuenta las medidas oportunas.

C. DECLARACIÓN DEL REPRESENTANTE LEGAL

1. Una vez entendido el procedimiento, yo padre o madre de familia y/o representante legal conozco con claridad que el objetivo del procesamiento de muestras biológicas (sangre, heces y orina) pertenecientes a mi representado(a) y la realización de exámenes de laboratorio clínico es la identificación de parámetros hematológicos, bioquímicos, así como el análisis de heces y orina para evaluar el estado de salud y con ello contribuir a su óptimo desempeño académico.

2. Doy mi consentimiento para que se realice la toma y recolección de muestras de sangre, orina y heces a mi representado y en constancia firmo.

FIRMA DEL PADRE, MADRE Y/O REPRESENTANTE LEGAL DEL NIÑO(A)

Nombre y apellidos: _____ C.I.: _____

Firma: _____ N° telefónico: _____

D. FIRMA DEL PROFESIONAL QUE REALIZA EL PROCEDIMIENTO

Yo, _____ de profesión _____ he informado el propósito, naturaleza y ventajas del procedimiento.

Firma del profesional: _____ C.C.: _____

E. LUGAR Y FECHA: _____

Anexo N°9: Resultados obtenidos de la investigación

CODIGO	BILIRRUBINA TOTAL (mg/dl)	BILIRRUBINA DIRECTA (mg/dl)	BILIRRUBINA INDIRECTA (mg/dl)	FOSFATASA ALCALINA (U/L)
1	0,20	0,06	0,14	46
2	0,20	0,05	0,15	53
3	0,20	0,05	0,10	61
4	0,22	0,05	0,17	65
5	0,22	0,05	0,17	70
6	0,23	0,05	0,28	73
7	0,24	0,07	0,17	75
8	0,26	0,05	0,15	75
9	0,26	0,06	0,19	77
10	0,27	0,14	0,23	79
11	0,27	0,09	0,18	83
12	0,28	0,07	0,21	85
13	0,29	0,08	0,21	87
14	0,29	0,07	0,22	87
15	0,31	0,07	0,24	90
16	0,32	0,05	0,27	92
17	0,32	0,08	0,24	96
18	0,33	0,05	0,28	96
19	0,33	0,32	0,27	97
20	0,33	0,33	0,27	97
21	0,33	0,07	0,26	98
22	0,33	0,08	0,22	98
23	0,34	0,05	0,29	99
24	0,34	0,05	0,29	100
25	0,34	0,07	0,27	102
26	0,35	0,07	0,28	103
27	0,35	0,07	0,28	104
28	0,35	0,08	0,25	105
29	0,36	0,07	0,27	105
30	0,36	0,09	0,27	106
31	0,37	0,09	0,28	108
32	0,37	0,08	0,25	109
33	0,37	0,08	0,27	110
34	0,37	0,08	0,28	110
35	0,38	0,07	0,31	110
36	0,39	0,08	0,31	110
37	0,39	0,07	0,32	111
38	0,39	0,08	0,28	111

39	0,39	0,08	0,29	112
40	0,40	0,11	0,29	113
41	0,40	0,08	0,32	114
42	0,40	0,07	0,33	114
43	0,40	0,08	0,32	114
44	0,40	0,08	0,29	115
45	0,40	0,08	0,31	115
46	0,40	0,08	0,32	115
47	0,41	0,07	0,34	117
48	0,42	0,08	0,34	117
49	0,42	0,08	0,32	118
50	0,42	0,09	0,33	119
51	0,42	0,09	0,33	120
52	0,43	0,09	0,33	120
53	0,43	0,09	0,34	120
54	0,44	0,08	0,36	120
55	0,44	0,09	0,34	120
56	0,44	0,09	0,35	121
57	0,44	0,09	0,35	121
58	0,45	0,11	0,34	122
59	0,45	0,09	0,35	122
60	0,46	0,11	0,35	122
61	0,47	0,08	0,39	123
62	0,47	0,09	0,36	123
63	0,48	0,13	0,35	123
64	0,49	0,09	0,40	124
65	0,49	0,10	0,36	125
66	0,50	0,11	0,39	125
67	0,50	0,11	0,32	125
68	0,50	0,10	0,37	126
69	0,51	0,10	0,38	126
70	0,52	0,16	0,36	126
71	0,52	0,11	0,41	126
72	0,52	0,10	0,41	126
73	0,52	0,11	0,42	127
74	0,53	0,12	0,41	128
75	0,53	0,11	0,42	128
76	0,53	0,11	0,42	128
77	0,54	0,10	0,44	128
78	0,54	0,09	0,45	129
79	0,54	0,11	0,43	129
80	0,54	0,25	0,29	130
81	0,55	0,08	0,47	130

82	0,55	0,13	0,42	130
83	0,55	0,12	0,43	130
84	0,55	0,35	0,20	131
85	0,55	0,11	0,43	132
86	0,56	0,10	0,46	132
87	0,56	0,14	0,42	134
88	0,56	0,21	0,35	134
89	0,56	0,11	0,44	134
90	0,56	0,24	0,32	135
91	0,57	0,10	0,47	135
92	0,57	0,13	0,44	135
93	0,57	0,11	0,44	136
94	0,58	0,11	0,47	136
95	0,59	0,11	0,48	137
96	0,59	0,11	0,47	137
97	0,60	0,32	0,28	137
98	0,60	0,24	0,36	138
99	0,60	0,12	0,48	138
100	0,60	0,12	0,49	138
101	0,61	0,12	0,49	138
102	0,62	0,12	0,50	139
103	0,63	0,12	0,52	139
104	0,63	0,12	0,52	139
105	0,65	0,12	0,49	140
106	0,65	0,10	0,55	140
107	0,65	0,12	0,53	141
108	0,65	0,30	0,35	141
109	0,65	0,12	0,53	141
110	0,65	0,12	0,53	142
111	0,65	0,13	0,55	142
112	0,65	0,34	0,31	143
113	0,65	0,20	0,45	143
114	0,65	0,32	0,33	143
115	0,65	0,23	0,42	143
116	0,65	0,26	0,39	143
117	0,66	0,13	0,53	143
118	0,66	0,12	0,54	145
119	0,67	0,14	0,53	145
120	0,67	0,36	0,31	145
121	0,68	0,13	0,55	145
122	0,68	0,13	0,56	146
123	0,68	0,33	0,35	146
124	0,70	0,14	0,56	147

125	0,70	0,38	0,32	147
126	0,70	0,13	0,56	147
127	0,70	0,27	0,43	147
128	0,70	0,20	0,50	148
129	0,70	0,35	0,35	148
130	0,71	0,11	0,60	148
131	0,71	0,13	0,56	148
132	0,71	0,14	0,57	148
133	0,72	0,34	0,36	149
134	0,72	0,34	0,36	149
135	0,72	0,14	0,57	150
136	0,72	0,14	0,57	150
137	0,72	0,25	0,47	150
138	0,73	0,14	0,58	150
139	0,74	0,15	0,59	150
140	0,75	0,15	0,60	151
141	0,75	0,24	0,51	152
142	0,76	0,19	0,57	152
143	0,76	0,19	0,57	152
144	0,76	0,20	0,56	153
145	0,76	0,38	0,38	154
146	0,78	0,20	0,58	154
147	0,78	0,21	0,57	154
148	0,79	0,25	0,53	155
149	0,80	0,20	0,60	155
150	0,80	0,33	0,47	156
151	0,80	0,21	0,59	156
152	0,81	0,21	0,60	158
153	0,81	0,22	0,59	159
154	0,82	0,25	0,57	160
155	0,83	0,23	0,60	160
156	0,84	0,25	0,58	160
157	0,86	0,27	0,59	160
158	0,87	0,28	0,59	162
159	0,88	0,33	0,55	164
160	0,89	0,30	0,59	170
161	0,91	0,32	0,59	171
162	0,92	0,33	0,59	184
163	0,92	0,32	0,60	188