

BIOQUÍMICA CLÍNICA

PARA CIENCIAS DE LA SALUD

CAPÍTULO I

MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO
DE BIOQUÍMICA CLÍNICA SEGÚN LA
ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD



EDICIONES **MAWIL**



Fotografía 1. Promoción: año 2017. Tomada Tercer Semestre 2018 Ordinario I. Estudiantes de medicina haciendo uso de las medidas de Bioseguridad.

Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio “Dayana”

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha emitido un Manual de Bioseguridad en el Laboratorio (1) donde dicta las normas generales, y algunas particulares, que deben regir la bioseguridad en los laboratorios de bioquímica clínica. El punto más importante desde el que hay que partir, para implementar las normas de bioseguridad en un laboratorio es conocer el nivel de riesgo en que se clasifica el laboratorio en cuestión, según este manual.

Los niveles de riesgo de laboratorio están determinados por el grado de virulencia y el tipo de microorganismo con el que se trabaja. En los laboratorios de bioquímica clínica la exposición a microorganismos está dada por la concentración o carga que puedan contener fluidos orgánicos que habrán de procesarse.

Clasificación de los microorganismos por Grupos de Riesgo según la OMS (1):

- Grupo de riesgo 1 (riesgo individual y poblacional escaso o nulo). Gérmenes que presentan escasas probabilidades de producir enfermedades en las personas o los animales.
- Grupo de riesgo 2 (riesgo individual moderado, riesgo poblacional bajo). Agentes patógenos que pueden provocar enfermedades humanas o animales, exhibiendo bajas probabilidades de representar un riesgo grave para las personas que los manipulan, la población general, los animales o el ambiente. La exposición laboral puede provocar infecciones graves, pero sus posibilidades de propagación son limitadas por la existencia de medidas profilácticas y reactivas eficientes.
- Grupo de riesgo 3 (riesgo individual elevado, riesgo poblacional bajo). Microorganismos que suelen provocar enfermedades graves en humanos o animales. Pero que la transmisión es de un individuo a otro individuo. También poseen medidas profilácticas y de atención eficientes.
- Grupo de riesgo 4 (riesgo individual y poblacional elevado) Microorganismos que pueden provocar enfermedades graves en las personas o animales, que se transmiten de individuo a individuo, de manera directa o de forma indirecta, pero no existen medidas profilácticas y reactivas eficientes.

La Tabla 1 muestra la clasificación de los laboratorios según el nivel de riesgos, y describe las normas que ameritan según el nivel:

Tabla 1. Niveles según las tareas que se realizan y los riesgos biológicos que se manejan (1)

Grupo de riesgo	Nivel de bioseguridad	Tipo de laboratorio	Prácticas de laboratorio	Equipo de seguridad
1	Básico Nivel 1	Enseñanza básica, investigación	TMA	Ninguno, trabajo en mesa de laboratorio al descubierto
2	Básico Nivel 2	Servicios de atención primaria, diagnóstico, investigación	TMA y ropa protectora; señal de riesgo biológico	Trabajo en mesa al descubierto y CSB para posibles aerosoles
3	Básico Nivel 3	Diagnóstico especial, investigación	Prácticas de nivel 2 más ropa especial, acceso controlado y flujo direccional del aire	CBS además de otros medios de contención primaria para todas las actividades
4	Básico Nivel 4	Unidades de patógenos peligrosos	Prácticas de nivel 3 más cámara de entrada con cierre hermético, salida con ducha y eliminación especial de residuos	CBS de clase III o trajes presurizados junto con CBS de clase II, autoclave de doble puerta (a través de la pared), aire filtrado

Donde:

TMA: técnicas microbiológicas apropiadas según parte IV de Manual de Bioseguridad en el Laboratorio)

CSB: Cámara de Seguridad Biológica

Fuente: OMS, 2005.

Según lo que se puede observar en esta Tabla, un laboratorio de Bioquímica clínica estaría situado en el Nivel 2, es decir, un laboratorio que presta servicios de atención primaria a una población amplia, con fines de diagnóstico.

BIOQUÍMICA CLÍNICA PARA CIENCIAS DE LA SALUD

Este manual de la OMS también advierte que, en algunos casos, dependiendo del tipo de muestra con el que se esté trabajando (Ej.: muestra de pacientes infectados con patógenos del tipo 3), de los procedimientos que se hayan de aplicar (Ej. producción de gotículas o aerosoles con muestras de las que se presume contienen una concentración de patógenos importantes), se deben emplear normativas para laboratorios del Nivel 3.

A continuación, se presenta la Tabla 2, que contiene de manera resumida, el manejo de los dispositivos de seguridad en laboratorio, según el nivel de riesgo:

Tabla 2. Síntesis de condiciones de bioseguridad en laboratorios de bioquímica clínica (1)

	Nivel de bioseguridad			
	1	2	3	4
Aislamiento del laboratorio ¹	No	No	Sí	Sí
Sala que pueda precintarse para ser descontaminada	No	No	Sí	Sí
Ventilación:				
- Flujo de aire hacia el exterior	No	Conveniente	Sí	Sí
- Sistema de ventilación controlada	No	Conveniente	Sí	Sí
- Salida de aire con filtros HEPA	No	No	Sí/No ²	Sí
Entrada de doble puerta	No	No	Sí	Sí
Cámara de cierre hermético	No	No	No	Sí
Cámara de cierre hermético con ducha	No	No	No	Sí
Antesala	No	No	Sí	-
Antesala con ducha	No	No	Sí/No ³	No
Tratamiento de efluentes	No	No	Sí/No ³	Sí
Autoclave:				
- En el local	No	Conveniente	Sí	Sí
- En la sala de trabajo	No	No	Conveniente	Sí
- De doble puerta	No	No	Conveniente	Sí
CBS	No	Conveniente	Sí	Sí
Capacidad de vigilancia de la seguridad del personal ⁴	No	No	Conveniente	Sí



- | |
|--|
| <ol style="list-style-type: none">1 Aislamiento ambiental y funcional respecto del tráfico general2 Según la localización de la salida de aire3 Según cuáles sean los agentes empleados en el laboratorio4 Por ejemplo, en ventana, sistema de televisión en circuito cerrado, comunicación en dos sentidos <p>HEPA: filtración de partículas aéreas de gran eficiencia (High-Efficiency Particulate Air)</p> |
|--|

Fuente: OMS, 2005

Este manual de bioseguridad en laboratorio, la OMS ofrece directivas de seguridad según los tipos de laboratorio que van desde el diseño de espacio físico hasta los primeros auxilios en casos de accidentes y contingencias, pasando por todo lo concerniente a la evaluación de riesgos, los equipos de protección personal, la desinfección y esterilización, el transporte, almacenamiento y desecho de materiales peligrosos, la formación y capacitación del personal en relación a la seguridad en el trabajo.

La OMS articula estas directrices con otras normativas más precisas en otros aspectos del trabajo en laboratorio, de equipos de laboratorio, bajo la premisa de que el buen mantenimiento de los equipos, reduce ampliamente no solo los factores de riesgo químicos y biológicos, sino también los factores de riesgo eléctricos, mecánicos y físicos.

Bioseguridad en laboratorios de los niveles 1 y 2



Fotografía 2. Los estudiantes que no tienen guantes corresponden al nivel 1 de Enseñanza básica, aquí ellos solo ingresan los datos al equipo donde se procesaran las muestras para ser analizados los diferentes analitos. Mientras que los que usan guantes son los que procesan las muestras. Estudiantes: Paula Hoyos, Esteban Amador, Anita Macias, Daniela Garcia, Maria de los Angeles Fernandes, Diego Zambrano, Martha Calvas, Heydi Estrada y Diana Orellana de izquierda a derecha.

Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio “Dayana”

Las recomendaciones ofrecidas aquí constituyen los procedimientos mínimos para cualquier laboratorio de cualquiera de los niveles de riesgo. Algunas de ellas pueden lucir como no necesarias, para algunos organismos del grupo de riesgo 1, pero son apropiadas para la formación del personal, con el fin de propiciar el uso de técnicas seguras para cualquier contingencia. Todo laboratorio de bioquímica clínica debe procurar cumplir, al menos, las recomendaciones de bioseguridad para el nivel 2, ya que ningún laboratorio puede garantizar el control nece-

sario para las muestras con que trabaja. Algunos países exigen que los laboratorios clínicos se acrediten bajo la normativa internacional así de la OMS como también bajos sus normas nacionales y locales.

Las directrices emanadas del Manual de Bioseguridad en Laboratorio de la OMS son más detalladas, por lo que se recomienda al personal del laboratorio tener dicho manual como libro de cabecera para su aplicación eficiente. A continuación se presenta un resumen de recomendaciones mínimas que se deben conocer.

Protocolos de trabajo o Códigos de prácticas

Se trata de una enumeración, por escrito, de los procedimientos de los laboratorios básicos. Estos protocolos o codificación de las técnicas, puede emplearse con el fin de elaborar una guía escrita para que todos los trabajadores manejen criterios de seguridad universales y unificados.

Acceso a los laboratorios

1. Siempre debe colocarse el símbolo internacional de peligro biológico en todas las puertas de acceso al laboratorio.
2. Únicamente podrá ingresar a las áreas de trabajo el personal autorizado.
3. Las puertas de los espacios del laboratorio deben mantenerse cerradas.
4. Debe prohibirse la entrada de niños en las zonas de trabajo del laboratorio, exceptuando el área de recolección de muestra, donde el niño deberá permanecer sólo el tiempo necesario para este fin.
5. Debe prohibirse la entrada de animales a las áreas de trabajo, excepto al área de recolección de muestra si se trata de un laboratorio de bioquímica para fines veterinarios o de investigación.

Protección personal



Fotografía 3. Se muestra la vestimenta que debe de tener como protección. Cada personal que trabaje en el Laboratorio Clínico. Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio “Dayana”

1. Todo el personal del laboratorio deberá lavarse las manos siguiendo las medidas de lavado de manos de la OMS antes de empezar y al finalizar la jornada.
2. Usar el mandil que debe ser largo y con mangas largas dentro del laboratorio.
3. Debe usarse guantes para cada procedimiento que implique contacto con fluidos corporales y otros materiales para evitar contagio.
4. Siempre que sea necesario, debe usarse gafas de seguridad u otros dispositivos que puedan proteger los ojos o la cara.
5. No deben usarse los equipos de protección personal fuera del laboratorio.
6. El calzado de todo el personal siempre debe ser cerrado.
7. Debe prohibirse comer, fumar, beber, maquillarse e incluso colocarse lentes de contacto, dentro de las áreas del laboratorio.
8. No guardar alimentos y bebidas para consumo humano en las



áreas de trabajo.

9. La vestimenta de seguridad no debe guardarse junto con el vestuario doméstico.

Procedimientos

1. Nunca se debe pipetear usando la boca. Se usa auxiliares como las peras de caucho, dispositivos como las pipetas automáticas o los dispensadores.
2. Debe evitarse colocar material alguno, ni los dedos en la boca, dentro del área de laboratorio.
3. Todo procedimiento se ejecutará de forma tal que se minimice la producción de aerosoles.
4. Las jeringas y agujas hipodérmicas deben ser descartadas en guardianes rojos y corto-punzantes.
5. Todo accidente e incidente de trabajo debe reportarse inmediatamente por medio de un registro escrito.
6. Debe elaborarse un protocolo de trabajo para el tratamiento de los derrames y limpieza de estos.
7. Los fluidos contaminantes serán descontaminados por los procedimientos establecidos antes de ser descartados por el recolector de salubridad.
8. Cualquier documento que surgiera en el interior del laboratorio, si ha de salir de éste, debe estar exento de contaminación.

Áreas de trabajo

1. Debe mantenerse el orden y limpieza en todo momento.
2. Todas las superficies deben descontaminarse al final de cada jornada de trabajo, e inmediatamente de cualquier derrame.
3. Todo material contaminado deberá ser descartado en sus respectivos guardianes.
4. Si hubiere ventanas que necesariamente deban mantenerse abiertas, éstas deberán contar con una malla protectora contra la entrada de bichos.



Gestión de la bioseguridad

La vigilancia de la bioseguridad debe ser responsabilidad de todo el personal que labora en el laboratorio, quién debe estar formado adecuadamente para tal fin, lo cual implica que estarán al corriente de los riesgos y condiciones peligrosas presentes en el espacio laboral.

Diseño e instalaciones del laboratorio

Previo a la apertura de un laboratorio de bioquímica clínica debe desarrollarse un diseño que contemple la minimización de las condiciones peligrosas que estarán presentes al momento de estar funcionando, que involucren todos los factores de riesgo conocidos, para esto, el arquitecto y el ingeniero deberán acudir a la normativa internacional, nacional y local respecto al tema de la higiene y seguridad en el trabajo.

Características de diseño

1. Según la OMS dispone que el espacio debe ser suficiente, según el Instituto de Educación Superior la normativa para el espacio recomendado es de 60 m².
2. Paredes, techos y suelos deberán ser lisos, impermeables frente a los fluidos, resistentes a la corrosión.
3. La iluminación debe ser adecuada.
4. Mobiliario adecuado y cómodo.
5. Presencia de pequeños almacenes para los artículos de uso frecuente y espacios más grandes, adecuados, para el material de uso no mediato.
6. El personal debe contar con un espacio para guardar su ropaje y otros objetos personales.
7. Buenas fuentes de agua para la limpieza y para emergencias.
8. Debe haber un área para la descontaminación del material de trabajo.
9. Presencia de medios de protección contra incendios y emergencias eléctricas.
10. Área para primeros auxilios.
11. Sistema de ventilación eficiente.

Material de bioseguridad indispensable

1. Pipetas automáticas de diferentes volúmenes, Pipetas de Pasteur y dispensadores.
2. Cámaras o Campanas de Seguridad Biológicas.
3. Fiolas, balones, vasos de precipitado, agitadores de vidrios y magnéticos, vidrios de reloj, espátulas y tubos de ensayo con sus tapones.
4. Centrifuga, equipo para el análisis de pruebas bioquímicas, Contador Hematológico, homogenizador de tubos, estufas o cámaras de luz UV, para esterilizar el material contaminado.

Vigilancia médica y sanitaria

La autoridad empleadora del laboratorio, junto con los comités de seguridad, debe establecer protocolos de vigilancia epidemiológica y sanitaria, desarrollando las siguientes actividades:

1. Vacunación del personal.
2. Detección precoz de enfermedades profesionales.
3. Garantizar los equipos y procedimientos de protección personal.

Capacitación

La capacitación del personal, respecto a los procedimientos de minimización de riesgos, así como de las técnicas de laboratorio, garantizará la seguridad y salud del personal. Es competencia de las autoridades sostener un programa continuo y actualizado en esta área, pero es competencia del comité de seguridad en el trabajo, garantizar la concurrencia de todo el personal a tales capacitaciones.

Algunos de los riesgos que deben considerarse en esta formación son:

1. Riesgo de inhalación e ingestión de muestras debido a la producción de aerosoles debido a la forma de pipetear, de abrir recipientes como los tubos de ensayo, la forma de centrifugar, etcétera.
2. Riesgo de pinchazos al manipular jeringas y agujas, por técni-



cas inadecuadas de uso y descarte.

3. Manejo de la sangre y demás materiales potencialmente patológicos.
4. Descarte y esterilización de materiales contaminados.

Manipulación de desechos

Se considera un principio cardinal, en un laboratorio, que todo el material infeccioso debe ser descontaminado y esterilizado en autoclave o incinerado dentro de las instalaciones del mismo.

Es importante que el personal de limpieza y descontaminación esté calificadamente formado para tales fines en el medio específico de laboratorio.

Procedimientos de manipulación y eliminación de material y desechos contaminados.

Identificación y separación de los diferentes materiales de desechos obtenidos

1. Desechos no contaminados.
2. Objetos corto-punzantes.
3. Material para ser esterilizado en autoclave.
4. Material para ser eliminado por métodos distintos a la incineración.
5. Material para ser incinerado.

Materiales cortantes y punzantes

A las agujas no se vuelve a colocar su capuchón, se descartarán inmediatamente después de usarse en los guardianes corto punzante.

Material para ser eliminado o incinerado

Todo material contaminado debe ser introducido en envases herméticos, llevado a la autoclave y posteriormente ser eliminado o incinerado.

Deben seguirse las normas de codificación por color de clasificación del material, según rige la legislación nacional o local. Después de esterilizarse mediante la autoclave, el material puede ser transportado hacia los espacios donde habrán de incinerarse.

El material reusable que se emplea, deberá ser lavado y secado luego llevado al esterilizador para su descontaminación y posterior uso.

Los materiales líquidos podrán eliminarse por el drenaje siempre que sean hidrosolubles, y se tenga la seguridad de que es un sistema de drenaje propio que cumple con las normas para desechos de laboratorio. De lo contrario, deberán almacenarse en envases herméticos y ser almacenados o descartados bajo las normas para el material peligroso según su ficha toxicológica.

Riesgos químicos, eléctricos y de incendios

Sea cual fuere el nivel del laboratorio, las medidas contra riesgos químicos, eléctricos y de incendios deben ser las mismas.

1. Contar con sistemas automáticos o accesibles (si son manuales) de control de la electricidad.
2. Contar con los extintores contra incendios apropiados a las posibles fuentes de incendio del laboratorio.
3. Salidas de emergencia señalizadas y de fácil acceso.
4. Sistema de duchas de emergencia para diluir el contacto de químicos sobre el cuerpo.
5. Sistema eléctrico en buen estado.

En este libro se resume las directrices mínimas que la OMS propone para los laboratorios, pero es importante recordar que el Manual de Bioseguridad en Laboratorio expone más detallada y ampliamente estas recomendaciones, por lo que aquí se expone debe considerarse una guía general que debe remitirse al manual de la OMS si se quiere consolidar un sistema de seguridad efectivo.

Recolección de Muestras



Fotografía 4. Muestras recolectadas para la realización de los exámenes. Tubo tapa morada: EDTA, tapa verde heparina, tapa gris fluoruro. Reposan sobre el agitador automático hasta terminar la recolección y proceder a la realización del exame.

Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio “Dayana”

En un laboratorio de bioquímica clínica, la muestra más comúnmente utilizada es el suero, seguido del plasma, la sangre completa, el líquido cefalorraquídeo, la orina y las heces fecales.

Sangre completa

Es un fluido corporal que cumple funciones de transporte de diferentes sustancias, nutrientes y células, en todos los tejidos del cuerpo. Está compuesta principalmente por agua, solutos (electrolitos, sales, etc.), proteínas (albúmina, inmunoglobulinas, etc.) y elementos formes como los glóbulos blancos, los glóbulos rojos y plaquetas (2,3).



Fotografía 5. Tubo tapa morada con aditivo EDTA (etilen diamino tetraacético). Nos permite mantener la muestra sin que se cuagule para poder realizar: el conteo de glóbulos rojos, blancos, plaquetas, fórmula leucocitaria; hemoglobina glicosilada, etc.

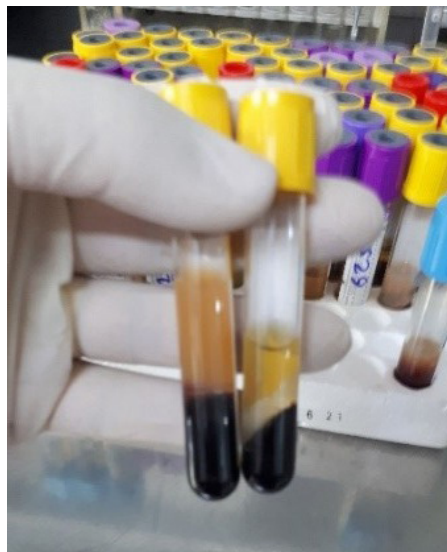
Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio “Dayana”

En condiciones naturales la sangre tiene la propiedad de coagular una vez que sale del cuerpo a través de heridas, con el fin de propiciar la formación de un coágulo formando un tapón que impida los derrames o salidas excesivas de sangre. Este tapón, se forma aproximadamente de 10-15 segundos del contacto entre la sangre y el aire y es formado por un complejo sistema llamado cascada de coagulación. En condiciones de laboratorio, se consigue impedir el proceso de coagulación incorporando, en la sangre extraída mediante una venopunción, una sustancia líquida o liofilizada llamada anticoagulante (2,3).

Estos anticoagulantes se añaden a los tubos donde se recolecta la sangre, y cada anticoagulante se reconoce por el color de los tapones del tubo.

Algunas pruebas bioquímicas realizadas con anticoagulantes son: Hemoglobina, Hemoglobina Glicosilada, fibrinógeno, entre otras. La sangre completa puede permanecer viable al menos 24 horas en refrigeración (2,3).

Suero



Fotografía 6. El tubo tapa amarilla al vacío con gel separador nos permite separar el líquido sobrenadante de elementos figurados de la sangre, a este líquido sobrenadante le llamamos suero, se usa en las pruebas bioquímicas como glucosa, colesterol, triglicéridos, urea, creatinina, bilirrubina, transaminasa, ácido urico etc.

Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio “Dayana”

El suero, es la muestra por excelencia para el laboratorio de Bioquímica Clínica, con ella se desarrollan casi el 80 % de las pruebas. Es un componente líquido de la sangre al que se le ha separado de los elementos figurados quedando retenidos en el coágulo.

El proceso de coagulación consiste en la producción de un conglomerado de células, unidos por lo que se conoce como red de fibrina. En condiciones naturales, la sangre carece de fibrina, ya que ésta se encuentra en estado de fibrinógeno. El paso de fibrinógeno a fibrina se produce en el contacto de la sangre con el aire o cualquier superficie distinta a las del organismo (Ej. vidrio o plástico de los tubos de ensayo), por procesos fisicoquímicos complejos. Dentro del organismo, estos procesos se activan con la ruptura interna de vasos sanguíneos, produciendo pequeños coágulos para reparar la ruptura del vaso.

Al producirse la coagulación en un tubo de ensayo (in vitro), al cabo de 20-30 minutos de reposo a temperatura ambiente, pueden verse, macroscópicamente, tres componentes: uno de color marrón rojizo, que es el coágulo propiamente dicho (serie roja), también conocido como taco, que se deposita al fondo del tubo. Encima del taco, se puede apreciar un pequeño disco blanco (serie blanca), compuesto por glóbulos blancos, denominado “capa blanca”. Adyacente o encima de la capa blanca se puede apreciar, una sustancia líquida, normalmente cristalina, de color amarillo, que es el suero (2,3).

Para obtener un suero óptimo para el análisis bioquímico, es necesario centrifugar la muestra de sangre al cabo de 30 minutos de reposo, de manera vertical, a 25° C. Luego de la centrifugación, se introduce el tubo en el lector de bioquímica si se trabaja de manera automatizada, o se separa el suero si se trabaja de manera manual.

Para la mayoría de las pruebas, el suero separado puede permanecer viable 24 horas entre 0 y 8° C, y por semanas o meses en congelación a -20°C. No es recomendable congelaciones y descongelaciones consecutivas, ya que esto produce la degradación de las proteínas.

Un suero de calidad analítica se obtiene cuando el paciente se encuentra en estado de ayuno, pues se evita la turbidez producida por la ingesta de lípidos que puede ser un importante interferente. La lipemia se reconoce porque el suero se muestra desde ligeramente turbio hasta un aspecto lechoso nada transparente (2,3).

Plasma

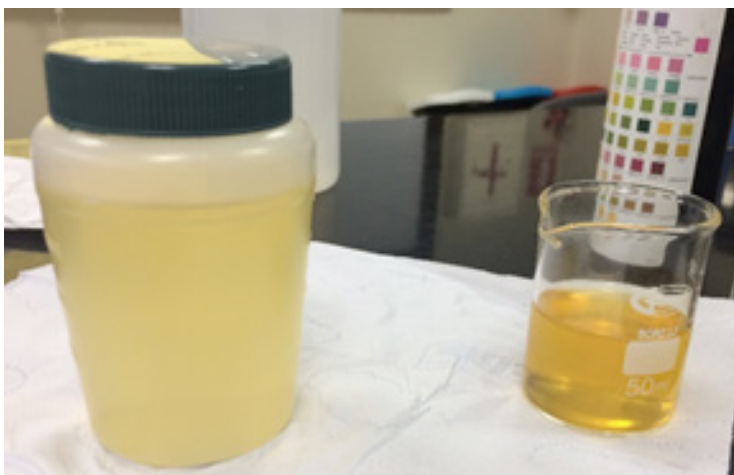
Es la porción líquida de la sangre cuando se ha utilizado un aditivo llamado anticoagulante razón por la cual no se coagula. Es decir, contiene fibrinógeno en lugar de fibrina. Se obtiene por centrifugación de la sangre completa, y es la parte líquida, amarilla y translúcida que queda por encima del paquete celular que la centrifugación depositó al fondo del tubo (2,3).

En bioquímica el plasma puede ser un sustituto del suero, cuando éste no se obtenga de buena calidad analítica. Sin embargo, existen muchas pruebas que no pueden hacerse con plasma, por un alto contenido proteico, que puede resultar interferente.

Líquido cefalorraquídeo (LCR)

El líquido cefalorraquídeo es un líquido incoloro y transparente que cubre el encéfalo y circula por el sistema nervioso central que se produce en los ventrículos cerebrales. Se obtiene por una punción lumbar, que suelen realizar médicos especializados. Su análisis en un laboratorio de bioquímica es útil para el estudio de las meningitis, marcadores tumorales y ciertas intoxicaciones. Se recolecta en un tubo de plástico o vidrio específico para esta muestra. En bioquímica clínica es muy frecuente evaluar los niveles de glucosa y proteínas en LCR (3).

Orina



Fotografía 7. Muestra de orina para las pruebas físicas, químicas y sedimento recolectadas en la mañana.

Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio “Dayana”

Es un líquido ligeramente amarillo que se produce por un ultrafiltrado de la sangre al pasar por los riñones. En condiciones normales se obtiene mediante la micción. En condiciones patológicas se obtiene mediante una sonda uretral (3).

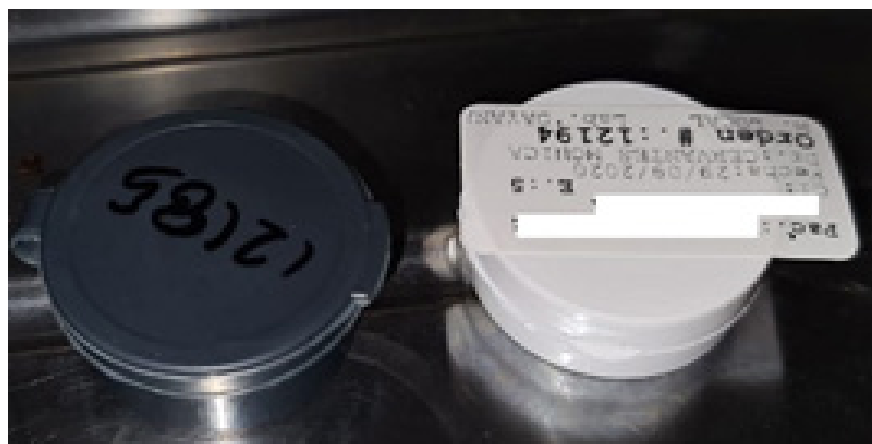
Las pruebas físicas y químicas que se realizan en la orina sin centrifugar son: aspecto, color, densidad, pH, y con tiras reactivas: proteínas, glucosa, cetonas, sangre, pigmentos biliares, urobilinógeno y nitritos, este examen es un procedimiento simple y rápido.

Para las mediciones bioquímicas, se recomienda que la orina se centrifugue y sea desprovista de la porción celular separando el sobrenadante con el que se trabajará.

Las pruebas bioquímicas más comunes, realizadas con la orina, en un laboratorio clínico son: proteínas, electrolitos, calcio, fósforo, y ácido úrico. En orina también se puede determinar la presencia de drogas ilegales como cocaína, marihuana, opiáceos, anfetaminas, y así como medicamentos, entre otros.

Las pruebas en orina pueden realizarse con orinas parciales en ayunas, con orinas parciales postprandiales, o con orinas de 24 horas de recolección.

Heces fecales



Fotografía 8. Muestra de heces para realizar el examen parasitológico, citología fecal, *Helicobacter pylori*, etc.

Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio “Dayana”

BIOQUÍMICA CLÍNICA PARA CIENCIAS DE LA SALUD

Las heces fecales son productos de degradación de los alimentos, pero contienen también sustancias de desecho del metabolismo como la bilirrubina, entre otros. Son pocas las pruebas realizadas desde la bioquímica en las heces, algunas se relacionan con el pH, azúcares reductoras y con su contenido de grasa. Otra prueba bioquímica frecuente es la prueba rápida de sangre oculta en heces y si hay o no la presencia de parásitos.

El médico explicará al paciente cómo realizar la recolección de las heces, esta dependerá del examen a realizar que debe ser en un envase estéril y tomar de diferentes partes del total expulsado y llevarla al laboratorio con pocas horas de haber sido deyectadas.

Punción venosa



Fotografía 9. Punción Venosa para obtener el plasma o suero usadas en pruebas de Bioquímica.

Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio “Dayana”

La recolección de la muestra es el punto de partida del trabajo del bioquímico clínico. Esta se realiza mediante la punción venosa (venopun-

ción) y debe intentar hacerse de manera rápida, eficaz, y con el menor trauma posible, no sólo para evitar el dolor excesivo al paciente, sino también para evitar la hemólisis (ruptura masiva de glóbulos rojos), considerado el principal y más común factor de interferencia para las pruebas bioquímicas.

Equipos básicos para realizar una punción venosa

1. Algodón estéril, en forma de motas para su fácil manipulación.
2. Alcohol isopropílico, para humedecer las motas de algodón con el fin de limpiar la zona de la punción.
3. Torniquete es una cinta elástica que se coloca entre 5 y 10 centímetros en dirección proximal, respecto al sitio donde se prevé hacer la punción. Tiene la función de obliterar la vena que habrá de pincharse para que esta se hinche haciéndose más accesible a la vista y a la palpación, adicionalmente produce un aumento de la presión de ese vaso, facilitando la salida de la sangre hacia la aguja. Una vez hecha la punción, el torniquete debe retirarse.
4. Gradilla para el reposo de los tubos de ensayo. La gradilla es un dispositivo de plástico, metal o alambre hecha para depositar tubos de ensayo. Las hay de diferentes calibres, por lo que es importante tener una donde los tubos quepan exactamente, para que se mantengan verticalmente y no se salgan de la gradilla al hacer cualquier movimiento.
5. Tubos de ensayo específicos para el tipo de muestra. Los tubos de ensayo vienen de diferentes diámetros y longitudes. Los hay de vidrio y de plástico. La mayoría de los tubos con anticoagulante, poseen un baño de silicón en las paredes interiores para evitar la coagulación antes de tener contacto con el aditivo.

A continuación, algunos tubos empleados de manera frecuente en los laboratorios de bioquímica clínica:

- Tubos con tapón color violeta: Contienen el anticoagulante llamado ácido etilendiaminotetraacético (E.D.T.A.) por sus siglas



- en inglés. Ideales para realizar Hemogramas y obtener plasma.
- Tubos con tapón verde: contienen el anticoagulante llamado Heparina. Ideales para realizar hemogramas, pruebas de metales pesados en sangre, entre otras. También se obtiene un buen plasma.
 - Tubos con tapa gris: contiene fluoruro de sodio, un compuesto anticoagulante que permite tomar muestras para las pruebas relacionadas con la glucosa sin que esta se consuma por la glicólisis llevada a cabo por los eritrocitos ya que inhibe las reacciones enzimáticas.
 - Tubos con tapón azul: contienen el anticoagulante citrato de sodio, ideal para pruebas de coagulación.
 - Tubos con tapón rojo no contienen aditivo por lo que se deben manipular con mucho cuidado.
 - Tubos con tapón negro: contiene un agente que promueve la coagulación y, además, un gel para la separación del suero.
 - Tubo con tapón amarillo que no contiene anticoagulante, pero sí un gel que separa los elementos figurados del líquido sobrenadante para su fácil manipulación.
6. Jeringas o Sistema de extracción por tubos al vacío. Las jeringas deben ser estériles y desechables. El sistema de extracción de sangre por tubos al vacío, es una técnica que ha ido desplazando a las jeringas, ya que minimiza el riesgo de pinchazo, y reduce la cantidad de desechos, pues en este sistema sólo se descarta la aguja.

Este sistema consiste en una camisa donde se enrosca una aguja de doble punta (una para el tubo y otra para la venopunción) y una vez que se ha hecho la punción venosa, el otro lado de aguja se inserta en la tapa de goma del tubo al vacío, provocando que la sangre salga, rápidamente, por gradiente de presión. Al llenarse el tubo, éste se saca de la camisa, y la aguja se descarta directamente en un envase adecuado, que viene provisto de una ranura para desenroscar las agujas de la camisa.



7. Guardián corto punzante. Son recolectores de plástico fuerte, especialmente diseñados para descartar objetos corto punzante, especialmente agujas hipodérmicas lancetas, bisturís y otras herramientas que cortan o penetran en la piel. Tienen una etiqueta que señala el riesgo biológico y una vez que se llenan y se cierran, quedan herméticamente cerrados y no se pueden volver a abrir.
8. Venda adhesiva, para colocarla en el punto de la punción.
9. Marcadores para rotulación de tubos. Los tubos suelen tener una doble etiqueta, una grande fuertemente pegada al tubo, con las indicaciones del tipo de tubo, y un espacio en blanco para escribir el código del paciente.

Condiciones de la toma de muestra de sangre venosa (2)

1. Ayuno. Para la mayoría de los exámenes de bioquímica clínica de tipo preventivos, se exige que el paciente se encuentre en condición de ayuno de entre 8 a 12 horas. Los exámenes de emergencia, no requieren ayuno, pero esto debe señalarse al médico para que considere los interferentes que produce el consumo de alimentos.
2. Comodidad. Tanto el paciente como el operador deben estar situados en un lugar cómodo, con buena iluminación y todos los implementos a la mano.
3. Puesto de extracción de muestra. El paciente debe estar sentado en una silla o mesa donde este cómodo para la toma de muestra, generalmente son muebles que cuentan con un posa-brazos para la extracción. Si se trata de un bebé, es preferible que esté en posición decúbito supino. Los puestos de extracción de muestra suelen tener, a la mano, todos los implementos y accesorios necesarios para una venopunción segura y efectiva.
4. El operador debe usar guantes. Si bien es cierto que los guantes elásticos no necesariamente son una garantía contra los pinchazos, constituyen una primera barrera de protección que puede reducir la carga de microorganismos potencialmente dañinos.



Procedimiento para la punción venosa

1. Verificar la orden de exámenes, los datos del paciente, nombres completos, fecha de nacimiento, cédula de identidad, teléfono, edad, y el Dr. Tratante.
2. Las pruebas solicitadas para prever qué tipo de tubos habrán de usarse y la cantidad de sangre por extraer.
3. Identificar el o los tubos adecuadamente, verificando que la codificación corresponda correctamente a cada paciente, esta se realiza por orden de llegada.
4. Informar al paciente de los procedimientos que se van a realizar y verificar su consentimiento.
5. Seleccionar el brazo con venas visibles y accesibles. Se puede extraer sangre de cualquier vena superficial, no obstante, las venas de preferencia son la basal, media o cefálica del área antecubital.
6. Verificar que la jeringa y el sistema de tubos al vacío estén en óptimas condiciones de uso (esterilidad y buen estado). Cuando se use jeringa es importante mover el émbolo adelante y atrás, para facilitar su movimiento cuando reciba la sangre.
7. Seleccionar la vena a canalizar mediante palpación. Normalmente las punciones se hacen con agujas calibre 21, pero si se trata de venas de difícil punción, se recomienda una aguja de un calibre 23. No debe extraerse sangre de una vena por donde se esté suministrando un medicamento o haya sido utilizada con ese fin en las 24 horas anteriores a la venopunción.
8. Limpiar la zona de la piel donde se encuentre la vena seleccionada para la punción con una mota de algodón previamente humedecida con alcohol etílico o un agente bacteriostático.
9. Colocar el torniquete.
10. Pedir al paciente que cierre el puño con una fuerza leve.
11. Se pincha al paciente cuidando que el bisel de la aguja se dirija hacia arriba. La aguja debe tener un ángulo aproximado de 15° respecto de la piel. Para extraer la sangre, solo es necesario que se introduzca 1 cm de la aguja.



12. Se inicia la extracción de sangre, de manera pasiva, si se trata del sistema de tubos al vacío o de manera activa, si se trata de una jeringa. En el caso de la jeringa, debe cuidarse de sostenerla firmemente para que no se salga la aguja cuando se tire del émbolo.
13. A los pocos segundos de ver salir la sangre, debe retirarse el torniquete, y pedir al paciente que abra la mano.
14. Si se está empleando tubos al vacío, debe cuidarse que la aguja no se salga al cambiar de un tubo a otro si fuera el caso.
15. Se retira la aguja de la punción, no sin antes haber colocado suavemente una mota de algodón o gasa, estériles, en el punto de inserción de la aguja. Una vez retirada la aguja, se le pide al paciente doblar el brazo por unos segundos.
16. Se transfiere la sangre de la jeringa a los tubos apropiados. Recordando hacer girar levemente, dos o tres veces, la sangre vertida en los tubos con anticoagulantes. Por el contrario, los tubos sin anticoagulantes deben permanecer en la gradilla.
17. Retirar la mota de algodón o gasa del brazo del paciente, y colocar la banda plegable sobre el punto del pinchazo para evitar la salida definitiva de sangre hasta su coagulación.

Criterios para rechazo de muestras (2)

1. Identificación inadecuada. Debe haber una concordancia absoluta entre los datos de la orden de exámenes, la identificación del paciente y los datos que se coloquen en los tubos de muestras, cualquier disparidad puede causar errores fatales.
2. Coagulación de muestras que no deberían estar coaguladas. Esto suele suceder cuando los tubos de ensayo alcanzaron su fecha de caducidad y aun así fueron usados, cuando no se agitó a tiempo la muestra al ser vertida en el tubo.
3. Empleo de los Tubos inadecuados. El suero es el tipo de muestra más recomendada para los análisis de bioquímica sanguínea. Los tubos con EDTA, fluoruro de sodio, citrato de sodio, no son apropiados para los otros procedimientos. Quelantes, como



el EDTA pueden afectar algunas pruebas enzimáticas.

4. Hemólisis. La hemólisis es el proceso de ruptura masiva de los glóbulos rojos, lo cual trae como consecuencia que el suero o plasma pierdan su limpidez y se tornen turbios y oscuros. Esto deviene en interferencias en la mayoría de las pruebas de carácter colorimétrico.
5. Tiempo preanalítico permitido. La mayoría de los analitos exhibe un tiempo máximo de viabilidad, donde realizar una prueba para determinarlo, es permisible considerarse válida. No se pueden aceptar muestras que excedan ese tiempo.

Sustancias interferentes

Las sustancias interferentes para las diferentes pruebas de química sanguínea, pueden ser muy diversas. Es necesario que el operador conozca los interferentes específicos para cada prueba, lo cual se puede hallar fácilmente en los insertos que ofrecen las casas comerciales junto con los reactivos.

Sin embargo, hay sustancias que cuando se presentan en altas concentraciones en suero, pueden ser interferentes en la mayoría de las pruebas bioquímicas. Tal es el caso de la Hemoglobina, la Bilirrubina y las grasas. En los tres casos, cuando se encuentran en altas concentraciones (por hemólisis en el caso de la hemoglobina, o por falta de ayuno, en el caso de las grasas), se afecta a las lecturas colorimétricas de las pruebas. Sin embargo, existen métodos (como el de la dilución de la muestra o el uso de blanco muestra) para corregir las interferencias de estos compuestos cuando su concentración es de normal a moderadamente elevada.

Estabilidad y almacenamiento de muestras biológicas

La estabilidad de las muestras biológicas es un factor importante para poder obtener resultados de alta calidad. Y ésta dependerá de la manera y el lugar donde las muestras se almacenen después de haber sido tomadas.

Temperaturas para almacenar muestras biológicas

Almacenamiento a temperatura ambiente (15°C/25°C). Se considera temperatura ambiente aquella provista por los acondicionadores de aire de los laboratorios en condiciones normales, las cuales suelen estar entre 15 y 25 grados centígrados. Hay que recordar que estas temperaturas son una medida de contención bacteriostática, además de reducir la evaporación de sustancias químicas volátiles; por lo que no se recomienda que un laboratorio de bioquímica trabaje a temperaturas mayores a 25°C.

Por lo general las muestras que se almacenan a temperatura ambiente son aquellas que serán procesadas, el mismo día. De no ser así, las muestras deberán tener ciertas condiciones técnicas por Ej. Guardar en congelación a -20°C para su posterior análisis.

- Muestras liofilizadas.
- Muestras con preservantes que permitan su estabilidad a temperatura ambiente.
- Fluidos biológicos durante cortos periodos de tiempo desde su obtención (2-4h).

Refrigeración (4°C - 8°C). La temperatura de refrigeración es la forma más común para almacenar las muestras biológicas, ofreciendo, para el suero y el plasma, una viabilidad de hasta una semana para muchas pruebas bioquímicas.

Congelación (-20°C). La congelación resulta el almacenamiento ideal para las muestras de suero y plasma si se desea procesarlas en un tiempo prolongado. Es importante recordar que la viabilidad de la muestra se pierde con proceso de congelamiento y descongelamiento repetidos.

En un laboratorio de bioquímica se pueden congelar:

- Suero y plasma hasta por 4 semanas continuas.
- Reactivos biológicos en alícuotas para utilizar en periodos cortos.

Ultracongelación (-80°C). En un laboratorio de bioquímica, la ultra congelación es un método recomendado para almacenar muestras de plasma o suero por un largo periodo, ya que a diferencia de la congelación, éste método evita la desnaturalización de las proteínas y gran parte de las moléculas biológicas, incluyendo el ADN (4).

Contenedores de muestras biológicas

1. Tubos de vidrio. Pueden usarse gradillas preferiblemente cuando se almacenan líquidos a temperatura ambiente o bajo refrigeración para que estos permanezcan vertical y sean manejables sin peligro.
2. Tubos de plástico. Se pueden usar bajo cualquier temperatura, pero son especialmente recomendados para el congelamiento y la ultracongelación.
3. Viales de transporte. Los viales de plástico con tapa rosca o adherida son recomendables para el almacenamiento de las muestras líquidas, ya que abarcan poco espacio y son de fácil manipulación.

Almacenamiento de la orina

Para efectos de los exámenes bioquímicos, la muestra de orina debe centrifugarse y se emplea el sobrenadante. Éste puede almacenarse en tubos o viales, bajo refrigeración o congelamiento. En condiciones de refrigeración, puede producirse una condensación de cristales disueltos en la orina, lo cual se reconoce fácilmente porque el sobrenadante, antes cristalino, se torna traslúcido. Para corregir esto, antes de realizar las pruebas bioquímicas, es necesario que la muestra reciba una incubación a 37°C hasta la desaparición de la turbidez.

Almacenamiento de las heces

Para efectos de las pruebas bioquímicas, las heces pueden también almacenarse en pequeños viales, ya que de ella solo se requieren muy pequeñas porciones. Sin embargo, lo ideal es procesarla en el menor plazo posible.