

ORGANIZACIÓN DEL LABORATORIO DE URGENCIAS

Autora Dra. Lilian Menéndez Quintana

Departamento Laboratorio Clínico

Contenido

- Reglamento
- Hemogasometría
- Tiempo de coagulación activado
- Glucemia
- Creatinina
- Amilasa
- Determinación de ALAT
- Determinación de CK
- determinación de CK-MB
- Lactato
- Líquido cefalorraquídeo

Reglamento del Laboratorio de Urgencias

- Toma de muestras: Las solicitudes de los exámenes son enviados a la sección, y se realiza la toma de muestra, excepto las muestras del salón, que son enviadas al departamento, luego de ser tomada por el anestesiólogo.
- La toma de muestra de los pacientes del servicio de quemado la realizan los técnicos del laboratorio de urgencia, como también las urgencias de las salas y el CRI.
- Libro de resultados: Recoge los siguientes datos:
 - ✧ Nombre y apellidos del paciente.
 - ✧ Fecha.
 - ✧ Hora.
 - ✧ Procedencia.
 - ✧ Resultado de las investigaciones.

- Los resultados son entregados a los lugares correspondientes, excepto la de los pisos o el salón, que es recogida por la secretaria, o informado por teléfono a la enfermera jefa de la sala ó médico de cabecera.
- Tiempo de entrega: depende del tipo de investigación: gasometría, hematocrito e ionograma (máximo 30 min). Otras investigaciones dependiente de la sección (máximo 90 min). El resto de las investigaciones que dependen del laboratorio central (180 min).

Exámenes de hemogasometría

Normativa para la determinación hemogasométrica

- Partiendo de una adecuada indicación, le corresponde al laboratorio garantizar la confiabilidad de los resultados, lo que proporcionaría una ayuda inestimable, a la conducta medica. El estudio de gases en sangre, requiere de un manejo meticuloso de las muestras para lograr, una exactitud analítica.
- Se exige en la indicación médica lo siguiente: identificación, sala, cama, hora de extracción, estado del paciente, (ambulatorio, internado, ventilado), temperatura, FIO₂, toma de muestra.
- Existe una secuencia de pasos que incluye la fase pre-analítica que son de estricto cumplimiento para lograr resultados satisfactorios, estos son:
 - ✧ Preparación.
 - ✧ Toma de muestras.
 - ✧ Almacenamiento.
 - ✧ Análisis.
 - ✧ Informe de los resultados.
- Preparación

La misma requiere de un equipamiento adecuado que incluye:

 - ✧ Jeringa, preferentemente de pequeño tamaño.
 - ✧ Aguja fina.
 - ✧ Anticoagulante.
 - ✧ Guantes.
 - ✧ Alcohol.
 - ✧ Recipientes de cristal, o viales plásticos.
 - ✧ Capilares.
 - ✧ Aceite mineral.
- Anti-coagulación

- ✧ Debe ser con heparina de litio (estándar), de sodio, o la equilibrada electrolíticamente para evitar las interferencias con los electrolitos. En nuestro medio utilizamos la heparina de sodio (líquida) por su disponibilidad, recomendando de 20 a 50 UI/mL de sangre, capaz de anticoagular eficazmente 1 mL de sangre.
 - Presentación: Bb de 5 000 U/mL
 - Uso: 5λ/ml de sangre.
 - Desventajas: si descuida la proporción recomendada, puede influir en los resultados de tres formas:
 - Dilución.
 - Adición de iones.
 - Unión a iones.
- Toma de muestra: aconsejable que se realice por personal adiestrado
 - ✧ Sitios de punción: arteria (radial, braquial, femoral); venoso central y capilar.
 - ✧ Exigencias para la toma arterial:
 - Tamaño de la arteria.
 - Accesibilidad.
 - Flujo sanguíneo colateral. Realizar **test de Allen** para arteria radial:
 - Cerrar fuertemente el puño.
 - Comprimir las arterias radial y cubital durante 2 ó 3 min.
 - Abrir lentamente las manos, mantener comprimidas las arterias.
 - Descomprimir la arteria cubital y mantener compresión radial
 - A los 15 ó 20 seg. debemos observar cambio de coloración de la palma de la mano; si la misma es buena proceder a la extracción.
 - Estado del miembro (no edematoso, ni colgante, ni frío).
 - ✧ Exigencias para la toma capilar:
 - Seleccionar lugar con red capilar abundante (lóbulo de la oreja, pulpejo, talón).
 - Arterializar la sangre capilar: calentar la piel hasta 42°C, limpiar la zona con alcohol.
 - Asegurar que tiene todo lo necesario (tubo capilar pre heparinizado, magnetos, hilos de plata).
 - Hacer punción profunda y dejar que la sangre fluya hasta que se forme una pequeña gota esférica. Desechar la primera gota.

- Insertar el tubo capilar profundo. No aplicar presión.
- Llenar el tubo rápidamente, para evitar la formación de burbujas.
- Insertar el hilo metálico, para asegurar una correcta anti coagulación.
- Si la muestra no va a ser procesada inmediatamente, sumergirla en agua helada.
- Almacenamiento:
 - Cuando no es posible la medición inmediata, después de la colección, debe conservarse adecuadamente, para evitar sesgo, ya que el metabolismo celular provoca cambios en el valor de los gases, pH y metabolitos:
 - ✦ Cambios inducidos por el metabolismo.
 - ⊕ pO_2 : disminuye por el consumo de las células.
 - ⊕ pCO_2 : aumenta por producción de cél sanguíneas
 - ⊕ pH: disminuye por cambios en pCO_2 y glicólisis
 - ⊕ Glucosa: disminuye por glicólisis.
 - ⊕ Lactato: aumenta por glicólisis.
 - Las muestras pueden almacenarse por un tiempo < de 10 min. a temperatura ambiente.
 - Pasado este tiempo debe guardarse a una temperatura entre 0°C y 4°C. Se aconseja no almacenarla por más de 30 minutos.
- ✧ Equipos disponibles para el proceder: ABL555, OMNI C
 - Muestra: sangre total.
 - El analizador es controlado por un micro procesador.
 - Mezclador de gases incluido.
 - Barómetro integrado.
 - Mantenimiento de electrodos y cambio de membranas sencillo.
 - Impresora integrada
 - Sistema de desecho cerrado.
 - Transferencia.
 - Esperar la orden de listo del equipo.
 - Homogenizar la muestra durante 20 seg. para que sea representativa
 - Desechar coágulos existentes para evitar obstrucción del equipo.
 - La transferencia debe ser lenta para evitar la hemólisis.

➤ Fundamento del método:

Medido por electrodo selectivo de pH, pCO₂ y pO₂

- ✦ pH: es medido potenciométricamente con 2 electrodos. El electrodo de pH y el electrodo de referencia.
- ✦ PCO₂: es medido con un electrodo de pCO₂ el cual combina un electrodo de vidrio y un electrodo de referencia Ag/Ag Cl. La señal de electrodo de pCO₂ es medida en mV.
- ✦ PO₂: es medido con el electrodo de pO₂ el cual es un electrodo corriente. La señal del electrodo es medida en mV.

Reactivos químicos y bioquímicos

- ✦ Solución de limpieza.
- ✦ Puente salino de CLK.
- ✦ Solución de calibración 1.
- ✦ Solución de calibración 2.
- ✦ Aceite mineral.
- ✦ Gas 1: contiene 5,6 % de CO₂ y 19.76 % de O₂.
- ✦ Gas 2: contiene 11.22 % CO₂ y 0 % O₂.

Intervalo de referencia.

➤ Resultados

<i>Gasometría arterial</i>			<i>Gasometría venosa</i>		
<i>Parámetro</i>	<i>Valor</i>	<i>Ud</i>	<i>Parámetro</i>	<i>Valor</i>	<i>Ud</i>
pH	7,35-7,45	-	pH	7,28-7,35	-
paCO₂	35-45	mm Hg	paCO₂	45-53	mm Hg
paO₂	95-100	mm Hg	paO₂	28-40	mm Hg
S.B	21-25	mMol/L	S.B	21-25	mMol/L
E.B	± 2,5	mMol/L	E.B	± 2,5	mMol/L
SaO₂	97-100	%	SaO₂	62-84	%

➤ Informe de los resultados:

- ✧ Los resultados emitidos por el equipo son transferidos a las órdenes de los pacientes y llevados al lugar de procedencia en el menor tiempo posible.

Pruebas para el estudio de la hemostasia

Se realizan por las técnicas normadas por la sección de hemostasia del Laboratorio Central. Las técnicas específicas del departamento son:

- **Determinación del Dímero-D**

- ✧ Ver PNO de la Sección de Hemostasia

TCA o tiempo de coagulación activado

Utilidad clínica

- El tiempo de coagulación activado es utilizado para el monitoreo durante la anticoagulación con heparina en: cirugía de *by-pass*, angioplastia coronaria transluminal percutánea, intervenciones radiológicas, oxigenación neonatal extracorpórea, hemofiltración, hemodiálisis, casos críticos.
- El TCA es un *test* en el cual se usa sangre total fresca y se le añade a un tubo que contiene un activador, en este caso *celite*.

Proceder técnico

- Baño Maria.
- Tubo cristal 13x100 ó de centrifuga.
- Celite (200 µg).
- sangre 2 mL
- Mezclar y echar a andar el cronómetro.
- Esperar 1 min.
- Invertir el tubo c/5 seg. hasta que la sangre coagule.
- Detener el cronómetro.
- Informar el test en segundos.
- Se informa > 600" si a los 10 min. no ha coagulado.

- ✧ Valor normal

< 2 min. o < 120 seg.

Productos de degradación del fibrinógeno (trombo-Wellcotest)

- ✧ Ver PNO de la Sección de Hemostasia

Conteo de plaquetas

- ✧ Ver GP de la Sección de Hemostasia

Plaquetas por láminas

- ✧ Ver GP de la Sección de Hemostasia

Tromboelastografía

- ✧ Ver GP de la Sección de Hemostasia

Determinación de la concentración del número de leucocitos (conteo global de leucocitos)

✧ Ver GP de la Sección de Hematología

Técnicas manuales de química sanguínea

Determinación de la concentración sérica de glucosa

- Para su determinación se empleará el método enzimático rapiglucotest (glucosa oxidasa) producido por la empresa Carlos J. Finlay en el cual la glucosa oxidasa reacciona específicamente con la glucosa de la muestra en estudio y se obtiene un compuesto de color rojo, leyéndose su absorbancia con el filtro 492.

Reactivos químicos

- Juego de reactivos de glucosa de la empresa Finlay.
- Sueros controles

Utensilios y aparatos de medición:

- Tubos de ensayo de 12 x 75
- Pipetas automáticas 20 µl y de cristal de 5 ml.
- Baño de María
- Reloj de timbre (Timer)
- Lápiz cristalográfico
- Gradillas de plástico.

Muestra

- Suero
- Plasma con heparina.
- Procedimiento.
- Disponer en gradilla las muestras a utilizar previamente identificadas.

	<i>Blanco</i>	<i>Sol. referencia</i>	<i>Control</i>	<i>Muestra</i>
Reactivo de trabajo	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
Solución de referencia		20 µL		
Suero				20 µL
Control			20 µL	
Agua destilada	20 µL			
Agitar e incubar a 37 °C durante 10 minutos				

- Leer en el equipo Eppendorf a 600 nm frente a blanco reactivo.
- Lectura en el equipo Elicheck
 - ✧ Manejo del equipo Elicheck:
 - Seleccionar la técnica.
 - Ir a ejecución.
 - Seleccionar el #1 (wash) y pasarle de 3 a 4 veces H₂O.
 - Dar un auto cero.
 - Posteriormente, seleccionar f3 y luego f2 para salvar el cero.
 - Leer la técnica.

$$\text{Cálculo concentración muestra} = \frac{\text{Densidad óptima de la muestra}}{\text{Densidad óptica del patrón} \times \text{concentración del patrón}}$$

Informe de los resultados.

- Los resultados serán anotados en el libro destinado para ello y reportados en las órdenes de cada paciente para ser recogidos por la secretaria de los pisos y los de urgencias serán entregados por parte del técnico en el lugar de procedencia.

Valores de referencia:

3,6 – 6,11 mMol/L

Determinación de creatinina (Jaffé modificado)

Fundamento del método

- La creatinina forma en solución alcalina con el ácido pícrico un compuesto de color amarillo anaranjado cuya intensidad del color es directamente proporcional a la concentración de creatinina en el suero.

Reactivos químicos

- Juego de reactivos de creatinina de la empresa Finlay.
- Sueros controles
- Ácido sulfúrico
- Tungstato de sodio 10 %

Utensilios y aparatos de medición:

- Tubos de ensayo de 12 x 75
- Pipetas automáticas 250, 500 µL y de cristal de 5 mL.
- Cronómetro
- Lápiz cristalográfico

- Gradillas de plástico.
- Fotómetro Eppendorf o equipo Elicheck.

Preparación de los reactivos

Ácido pícrico LPU

NaOH al 10 % ----- 1 mL

Ácido pícrico ----- 4 mL

Patrón listo para usar:

Patrón 50 mg % ----- 20 µL

H₂O destilada ----- 5 mL

Concentración del patrón: 2 mg %

Filtrado libre de proteínas para cada muestra de paciente:

Suero del paciente ----- 100 µL

H₂O destilada ----- 700 µL

Ácido sulfúrico 2/3 N ----- 100 µL

Tungstato de sodio al 10% ----- 100 µL

Mezclar y centrifugar

Separar el sobrenadante para utilizarlo en el procedimiento.

Muestra

- Suero libre de proteínas.

Procedimiento

- Disponer en gradilla las muestras a procesar previamente identificadas.

	Blanco	Sol. Referencia	Control	Muestra
Patrón LPU		500 µL		
Suero libre proteínas				500 µL
Control			500 µL	
Agua destilada	500 µL			
Ácido Pícrico	250 µL	250 µL	250 µL	250 µL
El ácido pícrico se añade a intervalo de 30 seg. entre una muestra y otra				
<i>Invertir y dejar reposar 15 minutos a temperatura ambiente</i>				

Leer en el equipo Elicheck con flujo continuo a 546 nm.

$$\text{Cálculo concentración muestra} = \frac{\text{Densidad óptima de la muestra}}{\text{Densidad óptica del patrón} \times \text{concentración del patrón}}$$

Informe de los resultados.

- ✧ Los resultados serán anotados en el libro destinado para ello y reportados en las órdenes de cada paciente para ser recogidos por la secretaria de los pisos y los de urgencias serán entregados por parte del técnico en el lugar de procedencia.

Valores de referencia

Hasta 2 mg %

Determinación de Amilasa

Fundamento de método

- En este método cinético la amilasa contenida en el suero produce hidrólisis del sustrato CNP-G3 para producir CNP (compuesto coloreado) el que se lee a 405 nm y siendo la intensidad del color directamente proporcional a la concentración de amilasa en suero.

Reactivos químicos

- Kit de reactivos de amilasa listos para el uso producido por la empresa C. J. Finlay.
- Sueros controles

Utensilios y aparatos de medición:

- Tubos de ensayo de 12 x 75
- Pipetas automáticas graduables de 200 µL y de cristal de 5 mL.
- Cronómetro
- Lápiz cristalográfico
- Gradillas de plástico.
- Baño de María a 37⁰ C
- Fotómetro Elicheck.

	<i>Blanco</i>	<i>Control</i>	<i>Muestra</i>
Reactivo de trabajo		1 mL	1 mL
Suero			15µL
Control		15 µL	
Agua destilada	1 mL		
Mezclar e incubar a 37 °C durante 1 minuto			

($\Delta DO/min$) durante 3 minutos contra agua destilada a 405 nm.

Muestra: Suero

Procedimiento:

- Disponer en gradilla las muestras a procesar previamente identificadas.

Cálculo de la concentración

$$[\text{Concentración de la muestra U/L}] = \Delta DO/min \times 4640$$

Donde:

U/L: unidad de medida de la concentración de amilasa en la muestra.

$\Delta DO/min$: variación de la absorbancia de la muestra por minuto.

4640: Factor de actividad enzimática.

Informe de los resultados

- ✧ Los resultados serán anotados en el libro destinado para ello y reportados en las órdenes de cada paciente para ser recogidos por la secretaria de los pisos y los de urgencias serán entregados por parte del técnico en el lugar de procedencia.

Valores de referencia:

Normal: < 89 U/L

Determinación de ALAT (TGP)

Fundamento del método

- La enzima ALAT cataliza la reacción de conversión del L-alanina en piruvato y este es reducido a lactato en presencia de la LDH y NADH. La actividad de la TGP se determina por la medición de la tasa de oxidación del NADH a 340 nm.

Reactivos químicos

- Kit de reactivos para TGP producidos por la empresa C. J. Finlay.
- Sueros controles.

Utensilios y aparatos de medición.

- Tubos de ensayo de 12 x 75
- Pipetas automáticas graduables de 200 μL y de cristal de 5 mL.
- Cronómetro
- Lápiz cristalográfico
- Gradillas de plástico.
- Baño de María a 37 $^{\circ}C$

- Fotómetro Elicheck

Muestra: Suero

Procedimiento

- Disponer en gradilla las muestras a procesar previamente identificadas.

	Blanco	Control	Muestra
Reactivo de trabajo		2 mL	2 mL
Suero			200 µL
Control		200 µL	
Agua destilada	2 mL		
Mezclar e incubar a 37 °C durante 1 minuto			

- Medir la variación de densidad óptica por min. durante 3 min. a 37°C, contra el blanco a 340 nm.

Calculo de la actividad.

$$\text{Actividad (U/L)} = \text{DO/min} \times 1746$$

Donde

U/L: Actividad de ALT de la muestra.

DO/min: variación de densidad óptica obtenida en los 3 min.

1746: Factor de actividad enzimática.

Informe de los resultados.

- Los resultados serán anotados en el libro destinado para ello y reportados en las órdenes de cada paciente para ser recogidos por la secretaria de los pisos y los de urgencias serán entregados por parte del técnico en el lugar de procedencia.

Intervalo de referencia:

Hasta 49 U/L

Determinación de CK

Fundamento del método

- Determinación de la actividad de Creatina-cinasa (CK) en suero, midiendo la velocidad de formación de NADPH a 340 nm.

Reactivos químicos

- Kit de reactivos de amilasa listos para el uso producido por la empresa C. J. Finlay.
- Sueros controles.

Utensilios y aparatos de medición.

- Tubos de ensayo de 12 x 75
- Pipetas automáticas graduables de 200 μL y de cristal de 5 mL.
- Cronómetro
- Lápiz cristalográfico
- Gradillas de plástico.
- Baño de María a 37 $^{\circ}\text{C}$
- Fotómetro Elicheck

Muestra: Suero

Procedimiento:

	<i>Blanco</i>	<i>Control</i>	<i>Muestra</i>
Reactivo de trabajo		1 mL	1 mL
Suero			40 μL
Control		40 μL	
Agua destilada	1 mL		
Mezclar e incubar a 37 $^{\circ}\text{C}$ durante 2 minutos			

Leer la variación de absorbancia de la muestra durante 3 min contra agua purificada a 340 nm a 37 $^{\circ}$ C

Cálculo de la actividad.

$$\text{U/L} = \text{Abs/min} \times 4127$$

Donde:

U/L= Actividad enzimática de CK en la muestra

Abs/min: Variación de la absorbancia de la muestra por min

4127: Factor de actividad enzimática.

Informe de los resultados:

- Los resultados serán anotados en el libro destinado para ello y reportados en las órdenes de cada paciente para ser recogidos por la secretaria de los pisos y los de urgencias serán entregados por parte del técnico en el lugar de procedencia.

Valor de referencia:

Hombre: 24 a 195 U/L
Mujer: 24 a 170 U/L

Determinación de CK-MB

Fundamento del método

- La determinación de creatina cinasa 2 en suero se basa en la inhibición de las sub-unidades CK-M por anticuerpos policlonales anti CK-MM. Los anticuerpos inhiben tanto la isoenzima MM como las sub unidades M correspondiente a la CK-MB.

La determinación de la actividad enzimática de las sub-unidades se realiza midiendo la velocidad de formación de NADP-H a 340 nm.

Reactivos químicos

- Kit de reactivos de amilasa listos para el uso producido por la empresa C. J. Finlay.
- Sueros controles.
- Utensilios y aparatos de medición.
- Tubos de ensayo de 12 x 75
- Pipetas automáticas graduables de 200 μ L y de cristal de 5 mL.
- Cronómetro
- Lápiz cristalográfico
- Gradillas de plástico.
- Baño de María a 37 $^{\circ}$ C
- Fotómetro Elicheck

Muestra: Suero

Procedimiento:

	<i>Blanco</i>	<i>Control</i>	<i>Muestra</i>
Reactivo de trabajo		1 mL	1 mL
Suero			40 μ L
Control		40 μ L	
Agua destilada	1 mL		
Mezclar e incubar a 37 $^{\circ}$ C durante 2 minutos			

Leer variación de absorbancia de la muestra durante 3 min a 340 nm contra agua.

Cálculo de la actividad:

$$U/L = \text{Abs/min} \times 8524$$

Donde:

U/L = Actividad de CKMB en la muestra

Abs/min = Variación de absorbancia de la muestra por min

8524 = Factor de actividad enzimática.

Informe de los resultados.

- Los resultados serán anotados en el libro destinado para ello y reportados en las órdenes de cada paciente para ser recogidos por la secretaria de los pisos y los de urgencias serán entregados por parte del técnico en el lugar de procedencia

Valor de referencia:

Hasta 24 U/L

Lactato

Fundamento del método

- El lactato esta fuertemente unido al metabolismo de los carbohidratos y al control de los valores del PH sanguíneo. El paso de lactato a piruvato es realizado por la enzima lactato oxidasa.

Reactivos químicos

- Kit de reactivos de lactatolistas para el uso producidos por elitech.
- Sueros controles.

Utensilios y aparatos de medición.

- Tubos de ensayo de 12 x 75
- Pipetas automáticas graduables de 200 μ L y de cristal de 5 mL.
- Cronómetro
- Lápiz cristalográfico
- Gradillas de plástico.
- Baño de María a 37 $^{\circ}$ C
- Fotómetro Elicheck

Muestra: Suero

Procedimiento:

	Blanco	Control	Muestra
Reactivo de trabajo	1 mL	1 mL	1 mL
Suero			10 μ L
Control		10 μ L	
Agua destilada	10 mL		
Mezclar e incubar a 37 $^{\circ}$ C durante 5 minutos			

Leer la variación de la absorbancia de la muestra durante 5 min a 540 nm contra agua.

Cálculo de la actividad:

OD muestra: Od standard x N

MG/DL N= 40

G/L N= 0.40

MMOL/L N= 4.44

N= Standard de concentración.

Informe de los resultados

- Los resultados serán anotados en el libro destinado para ello y reportados en las órdenes de cada paciente para ser recogidos por la secretaria de los pisos y los de urgencias serán entregados por parte del técnico en el lugar de procedencia.

Valores de referencia:

< 20 mg/dL o < 0,200 g/L

Examen de líquido cefalorraquídeo

Útil en el diagnóstico de enfermedades cerebro-vasculares.

En el análisis del mismo se realiza:

Examen físico:

- Aspecto: Transparente, incoloro como agua de roca, no coagula ni sedimenta.
- Presión: 20-70 gotas por min.

Examen químico:

- Proteínas: se hace estudio cualitativo y cuantitativo.
- Cualitativo con la técnica de pandy, para la presencia de globulinas:
 - ✧ Se coge un tubo 13 x100 con 2cc de fenol y 2 gotas de LCR:
 - ✧ **Si positivo:** se forma un enturbamiento de intensidad variable.
 - ✧ Se informa como +.
- Cuantitativo: se utiliza la técnica de azul de comassie.
- Glucosa: realizar método de glucosa oxidasa en analizador de química.
- Estudio citológico: realizar conteo global de células de forma siguiente:
 - ✧ Mezclar suavemente el LCR para resuspender las células.
 - ✧ Se carga la cámara de Neubauer y se deja en reposo durante 5 min.
 - ✧ Se cuenta las células en todos los cuadrantes de los 4 extremos.
 - ✧ El número de células contadas se multiplican x10 y se divide por 4. No contar los eritrocitos.

- ✧ El número normal de células es hasta 5 mm^3 .
- ✧ Si conteo celular está por encima de 50: realizar conteo diferencial de la siguiente forma:
 - ✦ Centrifugar el LCR a 1 500 rpm durante 5 min.
 - ✦ Eliminar el sobrenadante y con el sedimento se hace una extensión, que se fija con metanol y se colorea con Giemsa.
 - ✦ Se procede a realizar el diferencial.

Es importante saber que los líquidos hemorrágicos no son útiles para el examen citológico ni químico.

Cituria cuantitativa

Se realiza por la técnica normada en la sección de Orina-Nefrología del Laboratorio Central.