

JOSÉ LUIS MARTÍN CALDERÓN

PRINCIPIOS DEL LABORATORIO CLÍNICO



MUESTRA EDICIONES DÍAZ DE SANTOS

José Luis Martín Calderón

**PRINCIPIOS DEL
LABORATORIO CLÍNICO**

MUESTRA EDUCACIONES DÍAZ DE SANTOS



Madrid • Buenos Aires • México • Bogotá

MUESTRA EDICIONES DÍAZ DE SANTOS

©José Luis Martín Calderón, 2025 (versión ebook)

Reservados todos los derechos.

«No está permitida la reproducción total o parcial de este libro, ni su tratamiento informático, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico por fotocopia, por registro u otros métodos, sin el permiso previo y por escrito de los titulares del Copyright.»

Ediciones Díaz de Santos

Internet: <http://www.editdiazdesantos.com>

E-mail: ediciones@editdiazdesantos.com

ISBN: 978-84-9052-544-9 (versión papel)

e-ISBN: 978-84-9052-545-6 (ebook)

Fotocomposición y Diseño de cubierta: P55 Servicios Culturales C.B.

Índice

PREFACIO	VII
----------------	-----

I

PARTE GENERAL

Capítulo 1: Química clínica. Medicina de laboratorio. Muestras biológicas humanas	1
Capítulo 2: Estadística básica aplicada al laboratorio clínico	17
Capítulo 3: Calidad y control de la calidad en el laboratorio clínico	33
Capítulo 4: Métodos clásicos de análisis químico. Disoluciones y diluciones. Microscopía ...	59
Capítulo 5: Técnicas instrumentales usadas en química clínica. Automatización en el laboratorio	89
Capítulo 6: Métodos inmunológicos. Inmunoensayos	173

II

BIOQUÍMICA CLÍNICA Y GENÉTICA

Capítulo 7: Equilibrio hidroelectrolítico y ácido-base. pH y gases en sangre	189
Capítulo 8: Proteínas séricas. Métodos de separación y cuantificación. Proteinograma	207
Capítulo 9: Enzimología clínica. Significado clínico de la medida de la actividad enzimática	225
Capítulo 10: Glúcidos o hidratos de carbono: química, metabolismo y fisiopatología	241
Capítulo 11: Lípidos y lipoproteínas plasmáticas	273
Capítulo 12: Estudio de la función hepática por el laboratorio. Fisiopatología hepática	291
Capítulo 13: Hormonas. Fisiología y patología endocrinas	311
Capítulo 14: Exploración bioquímica de la función cardiaca. Biomarcadores cardiacos	367
Capítulo 15: Marcadores bioquímicos del cáncer	383

Capítulo 16: Farmacología clínica. Monitorización de fármacos. Toxicología clínica	397
Capítulo 17: Función renal. Estudio de la orina. Urolitiasis.....	427
Capítulo 18: Estudio de los líquidos serosos, sinovial y cefalorraquídeo	467
Capítulo 19: Estudio del semen y del moco cervical por el laboratorio.....	487
Capítulo 20: Genética clínica. Citogenética. Técnicas de genética molecular	495

III

HEMATOLOGÍA, E INMUNOLOGÍA

Capítulo 21: Sangre: composición. Fisiología y patología de la serie roja	543
Capítulo 22: Fisiología y patología del sistema leucocitario.....	597
Capítulo 23: Fisiología y patología de las plaquetas.....	627
Capítulo 24: Coagulación y fibrinólisis. Fisiología, patología y estudio de laboratorio	639
Capítulo 25: Inmunoematología y medicina transfusional.....	655
Capítulo 26: Sistema inmunitario: inmunología e inmunopatología.....	679

IV

MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA

Capítulo 27: Microbiología clínica. Técnicas de observación de los microorganismos.....	705
Capítulo 28: Crecimiento e identificación de los microorganismos. Medios de cultivo	715
Capítulo 29: Bacterias de importancia clínica. Clasificación, infecciones que causan y diagnóstico de laboratorio	747
Capítulo 30: Micobacterias. Identificación. Patología de la tuberculosis.....	779
Capítulo 31: Agentes antimicrobianos. Estudios de sensibilidad	799
Capítulo 32: Micología clínica. Clasificación y cultivo de hongos de interés médico.....	809
Capítulo 33: Parasitología clínica. Clasificación e identificación de parásitos de interés médico	823
Capítulo 34: Virología clínica. Sistemática e identificación de virus.....	859

Prefacio

En la práctica clínica actual, alrededor del 70% de las decisiones médicas están basadas en los datos provistos por los laboratorios clínicos, hasta el punto de que lo que clásicamente se conocían como pruebas complementarias, hoy casi se han erigido como pruebas principales en Medicina. El laboratorio que da soporte a las exploraciones clínicas se ha conocido clásicamente como Análisis Clínicos, y posteriormente como Laboratorio Clínico, e incluso como Biopatología Médica. Las ciencias del laboratorio clínico son bastante heterogéneas, de modo que incluyen disciplinas como la Microbiología, la Bioquímica, la Inmunología, la Genética o la Hematología, incluso la Farmacología y Toxicología clínicas, que de por sí constituyen campos de especialización separados. Lo que tienen en común todas ellas es la aplicación de disciplinas científicas básicas, como la Física, la Química y la Biología para obtener información de especímenes biológicos como sangre, orina y otros fluidos, relacionándolos con el estado de salud o enfermedad del paciente. Tradicionalmente se ha dejado aparte a la Anatomía Patológica, que se dedica a obtener información de los tejidos.

El laboratorio clínico ha sido una de las áreas de las ciencias de la salud más tempranamente tecnificadas, automatizadas y digitalizadas, especialmente en las áreas de Bioquímica Clínica y Hematología, debido al creciente incremento del número de muestras procesadas. Ello a veces ha llevado erróneamente a pensar a algunos colegas de otras especialidades que en los laboratorios “todo lo hacen las máquinas” (*sic*). En realidad, las tareas de los laboratorios de los hospitales y clínicas implican una serie de procesos complejos, que aunque automatizados, necesitan el concurso de personas bien entrenadas, desde facultativos especialistas hasta técnicos de laboratorio. Por otro lado, los laboratorios clínicos no son meros emisores de datos, cuantitativos, cualitativos o semicuantitativos. Estos datos deben ser convertidos en información que será útil al médico en el diagnóstico, pronóstico y seguimiento del proceso morboso. La conversión de los datos en información útil al clínico es de lo que trata lo que modernamente se ha dado en denominar “Medicina de Laboratorio”. De este modo, los profesionales de laboratorio no son solo *practicones* que realizan las determinaciones solicitadas, sino auténticos consultores sobre aspectos de las tres fases del ciclo de un laboratorio clínico, a saber: (1) preanalítica, (2) analítica y (3) postanalítica. La fase preanalítica, representada por todo lo que ocurre antes del análisis de la muestra, es un proceso fundamental, ya que en esta fase es donde se producen la mayoría de los errores que pueden dar lugar a resultados de baja calidad. Hay que tener en cuenta que un resultado obtenido

con una muestra no adecuada (mal extraída, obtenida en tubo erróneo o en un tiempo no adecuado) es peor que la ausencia de resultado. En lo que se refiere a la fase analítica, el valor añadido que puede dar el laboratorio es fundamental, en lo que se refiere por ejemplo a las interferencias analíticas, que pueden afectar a la especificidad de los resultados. En la fase postanalítica el facultativo de laboratorio tiene mucho que aportar al clínico en la interpretación de los resultados, ya que a veces el simple número requiere explicación en el contexto de la situación patológica.

En los tiempos que corren, escribir un libro de contenido científico con fines académicos con una única autoría es una tarea titánica y casi irrealizable, dado el grado de especialización que requiere cada uno de los capítulos, y más en el terreno de la Medicina de Laboratorio donde, como hemos dicho, cada uno de los bloques que la componen son áreas de especialización separadas. Por ello, con esta obra no he pretendido realizar un tratado, imposible en la actualidad para una sola persona, el libro está concebido como un manual basado fundamentalmente en mi experiencia docente en la preparación de técnicos de laboratorio, así como en mi labor asistencial e investigadora en los laboratorios de hospitales. Está dirigido principalmente a los estudiantes de técnico de laboratorio biomédico y a los profesionales de esta categoría que preparan oposiciones para los sistemas sanitarios públicos. Asimismo, puede tener utilidad en las asignaturas de los grados universitarios en los que se cursan asignaturas relacionadas con el diagnóstico de laboratorio, como los grados de Farmacia y Bioquímica. Espero que el texto tenga buena acogida entre los estudiantes y profesionales de laboratorio que lo consideren útil.

EL AUTOR

Talavera de la Reina, febrero de 2025

MUESTRA EDICIONES DE SAN DE SANTOS

I **PARTE GENERAL**

MUESTRA EDICIONES DÍAZ DE SANTOS

1

QUÍMICA CLÍNICA. MEDICINA DE LABORATORIO. MUESTRAS BIOLÓGICAS HUMANAS

■ QUÍMICA CLÍNICA. LABORATORIO CLÍNICO

Las Ciencias del Laboratorio Clínico van a apoyar a la Medicina en el diagnóstico de las diversas enfermedades mediante el análisis químico cualitativo o cuantitativo o el análisis biológico de unos determinados componentes en unos fluidos o especímenes, que son las muestras biológicas. Este conjunto de conocimientos se ha dado en llamar de diversos modos. Así, se habla de Medicina de Laboratorio en el mundo anglosajón, Biopatología Clínica en Francia y su área de influencia o Análisis Clínicos en España y Portugal. Se llame como se llame las Ciencias del Laboratorio Clínico van a aplicar las ciencias básicas (física, química, biología) al estudio de las muestras de pacientes. La Medicina de Laboratorio convierte datos cualitativos o cuantitativos en conocimiento usado por el médico para apoyar o descartar un diagnóstico o para instaurar o seguir un tratamiento. El primer laboratorio ligado a un hospital surge en Múnich en 1886.

Dentro de las Ciencias del Laboratorio Médico podemos incluir varias ramas, como son:

1. Química clínica.
2. Hematimetría y coagulación.
3. Medicina transfusional.
4. Inmunología.
5. Genética.
6. Microbiología y Parasitología.
7. Toxicología.

Para que los resultados sean fiables y apoyen de verdad el diagnóstico clínico debemos seguir una serie de pautas establecidas en la extracción, evitando así resultados erróneos. De la misma manera es muy importante tener cuidado en el transporte de la muestra hasta el laboratorio y en la conservación, si procede, desde la recogida hasta la realización del análisis.

Las muestras biológicas o especímenes que pueden ser objeto de estudio de un laboratorio de diagnóstico clínico son variadas, encontrándose entre ellas:

- Sangre.
- Orina.
- Heces.

- Líquidos corporales: cefalorraquídeo, sinovial, líquidos serosos (pleural, pericárdico, ascítico).
- Semen, líquidos vaginales, moco cervical.
- Espujo, exudados, etc.

Todo acto sanitario que se realiza en los laboratorios de diagnóstico clínico consta de tres etapas:

- Fase preanalítica, que abarca todo lo relativo a la preparación del paciente para la extracción de la muestra, así como la obtención, transporte y conservación de dicha muestra.
- Fase analítica, propiamente dicha: incluye todo lo relacionado con el análisis de la muestra.
- Fase postanalítica: es la fase de emisión e interpretación de los resultados.

Según todas las series publicadas la gran mayoría de los errores que se producen en los laboratorios clínicos son preanalíticos. De ahí la importancia de cuidar los factores preanalíticos a la hora de garantizar la fiabilidad de los resultados. La preparación adecuada del paciente para las pruebas es esencial, debiendo cuidarse ciertos aspectos como:

- El ejercicio: tiene efecto marcado sobre enzimas musculares como CK, aldolasa, LDH, etc.
- Ayuno prolongado: da lugar a aumento de bilirrubina y triglicéridos.
- Dieta: hay ciertas determinaciones que requieren una dieta específica (serotonina, catecolaminas, hidroxiprolinas).
- Hábitos tóxicos: el etanol aumenta los niveles de urato y triglicéridos. El tabaco aumenta los niveles de carboxihemoglobina.
- Efectos farmacológicos: efecto del paracetamol sobre la GGT o de la fenitoína sobre el ácido fólico.
- Obtención de la muestra: la aplicación incorrecta del torniquete y el ejercitar el puño puede incrementar los valores de lactato.

El personal que extrae la muestra debe verificar en primer lugar que esta pertenece al paciente correcto, así como que la muestra es la adecuada y se extrae en el tubo correcto.

■ MUESTRAS DE SANGRE

La sangre es la muestra más frecuente, la materia prima por excelencia de los laboratorios clínicos, ya que se trata de un tejido líquido muestreable de modo poco invasivo y del que se puede obtener información útil y rápida. La sangre puede obtenerse de arterias, venas o capilares. El tipo de punción elegido dependerá de las pruebas analíticas que necesitemos realizar y de la edad y estado del paciente. En la mayoría de los parámetros no existe una gran variación según su origen sea la sangre venosa, arterial o capilar. Sin embargo para la evaluación de los gases en sangre sí es importante conocer el origen de la muestra, pues los valores de referencia son muy distintos en sangre venosa y arterial. Del mismo modo la concentración capilar de glucosa es del 10 al 30% superior a la que se halla en sangre venosa.

Técnicas de punción

La extracción de muestras de sangre se realiza mediante agujas con jeringas desechables o bien con tubos de vacío. Antes de la extracción de la muestra debemos seguir unas pautas a fin de evitar errores preanalíticos y de evitar incomodar al paciente:

- Confirmar la identidad del paciente. En caso de que este no pudiese hacerlo lo deberá hacer un familiar.
- Asegurarnos de que el paciente ha seguido las instrucciones indicadas para la determinación en cuestión si fuese necesario (ayuno, dieta específica).
- Colocar al paciente para que esté cómodo y permitiendo al personal que extrae la sangre un acceso fácil al punto de punción.
- Preparar el material necesario (aguja, jeringa o tubos de vacío, antisépticos, etc.)

Punción venosa

La punción venosa es el método más frecuente para la obtención de muestras de sangre en los laboratorios clínicos, debido a su facilidad. Suele realizarse en la vena antecubital, por su grosor y superficialidad. La vena se detecta por palpación, y en los casos en los que no sea fácilmente localizable esta operación se facilita con movimientos alternativos de apertura y cierre de la mano. Alternativamente puede hacerse la extracción de las venas de mano y muñeca o de las venas del tobillo. Si el paciente presenta un catéter intravenoso debemos tratar de recolectar la muestra del brazo contrario. La técnica de punción consiste en:

- Colocar el torniquete e inspeccionar la zona en busca de la vena adecuada. El torniquete se colocará unos 2 cm por encima de la zona de punción elegida.
- Limpiar la zona de punción con algodón empapado en antiséptico (alcohol al 70%, povidona yodada al 1%). La zona se limpiará realizando movimientos espirales desde el punto elegido para la punción al exterior y se dejará secar unos segundos.
- Se sujeta la vena con el pulgar e índice de la mano libre, colocando un dedo por encima y otro por debajo de la zona a pinchar.
- Con el bisel hacia arriba introduciremos la punta de la aguja en vena con una inclinación de 15° respecto al antebrazo. La punción ha de ser suave y rápida.
- Si la punción se efectúa con jeringuilla retiraremos lentamente el émbolo para evitar que la sangre se hemolice o que se colapse la vena. Una vez realizada la extracción la sangre se traspara a los tubos adecuados dejándola resbalar por las paredes para evitar la hemólisis. Si la extracción se realiza con tubos de vacío se coloca el primer tubo en el interior del portatubos, sin que se perfora el tapón. Una vez canalizada la vena se introduce el tubo hasta el fondo y la sangre penetrará hasta que cese el vacío. Posteriormente se irán colocando los demás tubos hasta que se llenen todos. El último tubo se sacará del portatubos cuando hayamos retirado la aguja al paciente.
- Antes de retirar la aguja debemos quitar el torniquete, para que ceda la presión y el retorno venoso sea restablecido.
- Una vez extraída la aguja se proporciona al paciente un trozo de algodón para que presione en el lugar de punción durante 2-5 minutos para evitar hematomas y favo-

recer la agregación plaquetar. El algodón puede sujetarse con un esparadrapo, que se retirará transcurridos 10 minutos.

- Una vez realizada la extracción se moverán los tubos con suavidad para que la sangre se mezcle con los anticoagulantes si los hay.



Figura 1.1.

Para evitar contaminaciones en la muestra el orden de llenado de los tubos (Figura 1.2) es: (1) tubos sin anticoagulante (rojo); (2) tubos de citrato (azul); (3) tubos de heparina (verde); (4) tubos de EDTA (violeta); (5) tubos de NaF (gris).

En algunos casos la punción se realiza incorporando un dispositivo, como una palomilla o una vía venosa que se introduce en el vaso de forma temporal o continua. Es lo que se conoce como venoclisis. Se usa cuando se deben hacer intercambios continuos de sangre (transfusión, hemodiálisis), en alimentación parenteral o en pacientes hospitalizados a los que se esté aplicando medicación intravenosa de manera habitual.

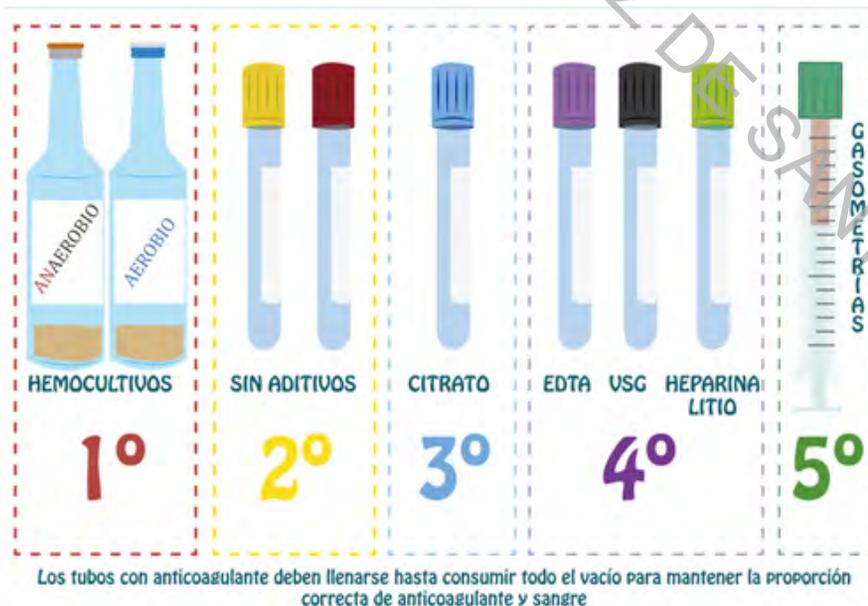


Figura 1.2.

Punción arterial

La extracción de sangre arterial está indicada principalmente para la determinación de los parámetros de la gasometría (pO_2 , pCO_2 , pH). Este tipo de extracciones presentan algunos inconvenientes con respecto a la venosa:

- Mayor dificultad técnica que las venosas debido a la mayor profundidad de las arterias, así como por la mayor fragilidad y peligro de formación de hematomas.
- Es mucho más dolorosas para el paciente que la punción venosa, ya que debido a la mayor profundidad arterial se puede entrar en contacto con paquetes nerviosos.
- La lesión producida por la aguja puede ocasionar vasoconstricción refleja o espasmo arterial, lo que puede alterar la irrigación desde la zona de punción hasta las zonas distales.

Antes de la punción el paciente ha de estar sentado y en reposo por lo menos diez minutos. Las arterias que se eligen de modo más frecuente son la radial y la femoral. Para la determinación del estado de oxigenación de la sangre se usan jeringas especiales de gasometría. No deben usarse nunca jeringas de plástico normales, pues el émbolo no sube con la presión arterial. El recipiente de referencia son las jeringas de vidrio con el interior lubricado con heparina, debido a que a través de sus paredes la difusión de gases es mucho menor que en el plástico. Sin embargo en los laboratorios actuales el uso de jeringas de vidrio es impracticable, ya que no son desechables y necesitarían esterilización entre paciente y paciente. Las jeringas especiales de gasometría soslayan en parte los inconvenientes de las jeringas de plástico convencional, ya que minimizan las pérdidas de gases a través de sus paredes. Además llevan en su interior heparina liofilizada, que evita la coagulación, y en ellas la presión de la sangre arterial es suficiente para subir el émbolo.

La técnica de punción arterial se lleva a la práctica como sigue:

- Después de informar al paciente y corroborar su identidad se localiza la arteria elegida y el punto de punción por medio de pulsaciones.
- Limpiar la zona de punción con material antiséptico.
- Introducir la aguja con una inclinación de 45° respecto al antebrazo, intentando que la punción sea rápida y suave, a fin de no incomodar al paciente. Si se canaliza la arteria la sangre entrará por sí sola en la jeringuilla, gracias a la presión del sistema arterial.
- Retirar la aguja del paciente y solicitar al paciente que presione fuertemente sobre el punto de punción durante 5 minutos, a fin de facilitar la hemostasia.
- Purgar el aire presente en la jeringa y taponar con una tapón hermético, con el fin de evitar la difusión de los gases.
- Mover suavemente la sangre para que se mezcle con el anticoagulante.

En el análisis de una gasometría la sangre debe procesarse lo antes posible, ya que las células están consumiendo oxígeno y eliminando dióxido de carbono, además de la difusión de gases, que aunque mínima, puede tener lugar a través del plástico. En caso de no poder realizarse el análisis instantáneo las muestras, deben introducirse en nevera, con el fin de ralentizar el metabolismo celular.

Punción capilar

Es el método de elección cuando se requiere poca cantidad de muestra (micrométodo), como ocurre sobre todo en lactantes y también en ancianos con tendencia a trombosis, en casos de obesidad extrema y grandes quemados. Esto se debe a que la cantidad de muestra extraída mediante venopunción es excesiva, especialmente para niños prematuros, pudiendo ocasionar paro cardíaco, hemorragia, trombosis, venoconstricción con gangrena de extremidades y riesgo de infección.

Para esta modalidad de extracción se usan lancetas estériles y tubos pediátricos o capilares heparinizados. Los lugares típicos para hacer esta punción son: el lóbulo de la oreja, el talón y la yema de los dedos (en la zona palmar de la tercera falange de los dedos de la mano, en niños mayores y adultos, y la zona palmar del dedo gordo del pie en lactantes. Para aumentar la circulación local de la sangre puede caldearse la zona de punción con un paño seco y caliente.

La sangre arterializada recogida de la punción cutánea de dedo ha sido recomendada como sustituto adecuado de la sangre arterial, por lo que se refiere a los valores de pH y $p\text{CO}_2$, pero no para la $p\text{O}_2$. La zona recomendada para obtener sangre arterializada es el lóbulo de la oreja, debido a su gran vascularización y su bajo consumo metabólico. La sangre de esta zona se arterializa por calor, golpeando ligeramente con el dedo índice hasta que se observa un flujo definido. De este modo los resultados hallados para el pH, $p\text{O}_2$ y $p\text{CO}_2$ son prácticamente superponibles a los que se obtienen por punción arterial.

La técnica de punción se realiza del siguiente modo:

- Etiquetar adecuadamente los recipientes donde va a ser tomada la muestra y corroborar la identidad del paciente.
- Elegir la zona de punción, debiéndose confirmar que no ha sido puncionada recientemente y que no está edematizada.
- Limpiar la zona elegida con povidona yodada al 1% o alcohol al 70%.
- Mantener firmemente sujeta la zona y puncionar con lanceta estéril una sola vez.
- La primera gota contiene líquido intersticial, que hay que desechar empapándolo en una gasa. Recogeremos la muestra en microtubos o tubos capilares, en los que la sangre penetrará por capilaridad. Si queremos aumentar el flujo realizaremos una ligera presión en la zona próxima.
- Cerrar los extremos de los recipientes. Limpiar el área de punción y ejercer presión con una gasa estéril hasta que deje de salir sangre.

Catéter intravascular

En pacientes que necesitan un seguimiento analítico exhaustivo en un espacio de tiempo reducido, como ocurre en los pacientes de UCI, se coloca un catéter intravascular (vía) con el fin de evitar molestias innecesarias y facilitar la labor del personal sanitario. El catéter es frecuentemente empleado para administrar medicación o sueros parenterales.

Cuando se extrae sangre de una vía vascular, puesto que está siendo utilizada para la administración de líquidos, se debe tener en cuenta la posible contaminación de la muestra por estos líquidos. Para evitar estos problemas se debe desechar una cantidad de sangre antes de recoger la muestra definitiva, no debiendo ser inferior esta cantidad a los 6 ml.

Recipientes de muestras, anticoagulantes y preservadores

Existen varios tipos de tubo para recoger muestras sanguíneas, teniendo cada uno un código de colores universal. Cuando la muestra que se quiere obtener para su procesado es suero sanguíneo, el tubo no necesita anticoagulante y el código de colores del tapón es rojo. Cuando lo que se requiere es sangre total o plasma, la sangre debe ser recogida en un tubo que contenga un anticoagulante. Existen varias sustancias que bloquean en diferentes pasos el proceso de coagulación natural de la sangre. Los anticoagulantes deben elegirse de acuerdo con las determinaciones que se vayan a realizar, asegurándonos de que su presencia no afecte a la medida. Por ejemplo si se quieren medir iones Na^+ , K^+ , no puede usarse como anticoagulante el EDTA tripotásico (sal del ácido etilendiamonotetracético), ni en tubos con heparina sódica; lo mismo sucede con la determinación del litio en tubos de heparina de litio. Los anticoagulantes más usados con sus correspondientes códigos de colores son los siguientes:

- Heparina (tubo verde): es el anticoagulante que menos interfiere en la mayoría de las determinaciones bioquímicas. Es un mucopolisacárido natural presente en muchos tejidos que neutraliza la acción de la trombina en el proceso de la coagulación. Se presenta frecuentemente como sal sódica, potásica o de litio y la dosis más usada es de unas 20 unidades por cada ml de sangre (0,2 mg/ml de sangre). Puede usarse como solución o secarse sobre las paredes de los tubos en los que se va a recoger la muestra. Se usa en las jeringas de gases y para recoger muestras destinadas al uso de plasma, sobre todo en los laboratorios de urgencias, donde se trata de evitar la demora que supone la obtención de suero por el tiempo necesario para la retracción del coágulo. Conserva la morfología celular, aunque produce un color azulado en las tinciones panópticas.
- Citrato sódico (tubo azul): actúa secuestrando el calcio imprescindible para el proceso fisiológico de la coagulación de la sangre, usándose una proporción de 30 mg por ml de sangre. Se emplea sobre todo para estudios de coagulación, aunque también se ha usado para medir la velocidad de sedimentación globular.
- Ácido etilendiaminotetracético, más conocido por EDTA (tubo violeta): se usa en forma de sus sales sódicas o potásicas, siendo la más frecuente la forma tripotásica. Actúa como agente quelante del calcio, factor clave en el proceso fisiológico de la coagulación sanguínea. Se utiliza en una proporción de 1-2 mg por ml de sangre. Se usa para recuentos celulares hematológicos, ya que respeta la morfología de los leucocitos y eritrocitos durante un máximo de 24 horas a 4 °C.
- Fluoruro (tapón gris): generalmente en forma de sal sódica. Inhibe gran cantidad de enzimas, incluidas enzimas de la ruta glucolítica, por lo que es especialmente útil en las determinaciones de glucosa, cuando entre el momento de la toma de muestra y la centrifugación de la sangre debe transcurrir más de una hora.
- Ácido cítrico/citrato disódico/dextrosa (ACD): la proporción de la mezcla es de 0,9 g de ácido cítrico, 2 g de citrato disódico, 2 g de dextrosa y agua destilada (120 ml). Se usa en banco de sangre en una proporción $\frac{1}{4}$ para la conservación de unidades de sangre.

En la siguiente tabla se muestra el código de colores universal para los tubos usados en los laboratorios clínicos.

Color	Muestra	Anticoagulante	Aplicación
Rojo	Suero	-----	Química
Verde	Plasma	Heparina	Química
Violeta	Sangre	EDTA	Hemograma
Azul	Plasma	Citrato	Coagulación
Gris	Plasma	Fluoruro	Glucosa



Figura 1.3.

Muestras de sangre para hemocultivos

Las extracciones de sangre para hemocultivos deben realizarse en unas condiciones especiales. Para ello se limpia la piel con alcohol del 70% y se extraen de 5 a 10 ml de sangre con una jeringa estéril. Este volumen de sangre se transfiere en la cabecera del paciente a unos frascos especiales de hemocultivos, que contienen un medio de transporte, pinchando con la aguja en el tapón de goma del recipiente. Cada muestra se ha de extraer por duplicado, debiéndose transferir sangre a un frasco para microorganismos aerobios y otro para anaerobios. Una vez descargada la jeringa se debe mezclar bien con el medio de cultivo contenido en el frasco. No se debe extraer sangre de un catéter, ya que este puede estar contaminado y dar falsos positivos.

El momento óptimo para la recogida de sangre destinada a hemocultivos se da cuando la temperatura del paciente aumenta. Se recomienda realizar tres tomas espaciadas entre sí diez minutos.

■ MUESTRAS DE ORINA

La obtención y conservación de la orina con fines analíticos debe efectuarse mediante un procedimiento cuidadosamente preestablecido para que los resultados sean válidos. Conviene utilizar para la recogida de la orina recipientes de plástico desechables. Las pruebas ana-

líticas de orina se diferencian básicamente en tres categorías: químicas, bacteriológicas y de examen microscópico. El método de obtención de la muestra de orina depende del análisis que se vaya a realizar.

Existen tres modalidades de recogida de las muestras de orina: (1) orina al azar o de micción aislada; (2) orina en un tiempo predefinido; (3) orina de 24 horas.

Orina de micción aislada

Procede de una sola micción y se recoge al azar a cualquier hora del día, aunque se suele preferir la de primera hora de la mañana por ser la más concentrada. Se recoge en un recipiente preferentemente estéril desechando el principio y el final de la micción. Es válida para los análisis cualitativos de rutina poco influenciados por las variaciones periódicas en la excreción de sustancias, que constituyen el llamado sistemático de orina, incluyendo el estudio microscópico del sedimento urinario. La muestra deberá ser procesada a la mayor brevedad posible, refrigerándola en su defecto, ya que la demora del análisis puede producir sobrecrecimiento bacteriano, destrucción de las células y alcalinización.

En estos análisis cualitativos se determinan de modo cualitativo, mediante tiras reactivas, el pH, densidad, glucosa, proteínas, cuerpos cetónicos, bilirrubina, urobilinógeno, nitritos, leucocitos y hemáties. Tras la centrifugación de la muestra se observa al microscopio el sedimento obtenido.

Orina recogida a tiempo predefinido

Esta modalidad se utiliza fundamentalmente para las determinaciones cuantitativas metabólicas, y en general para la medida de todas aquellas sustancias que exhiben variaciones en su excreción. Cuando se requieren varios muestreos la orina se recogerá a intervalos definidos empezando desde el “tiempo cero”.

La orina de 24 horas es la modalidad más frecuente de recogida a tiempo definido. El protocolo de recogida que debe seguirse es:

- Orinar al levantarse por la mañana, desechar esta orina y anotar la hora.
- Recoger la orina hasta la misma hora del día siguiente, conservando durante este periodo la orina refrigerada.
- Una vez recogida llevar lo antes posible al laboratorio, donde se mezcla bien y se mide el volumen (diuresis).

Las recogidas de orina de 24 horas que se llevan a cabo dentro del hospital son más fiables que las que se producen fuera del ámbito hospitalario, que requieren explicar bien al paciente el procedimiento. El problema más importante estriba en obtener un volumen de orina inferior al necesario, siendo 40 ml el mínimo imprescindible. No es fácil determinar si la recogida ha sido completa. En caso de que no sea posible obtener orina de 24 horas o que los resultados obtenidos con ella no sean fiables, se pueden expresar los resultados del parámetro en cuestión, en lugar de referidos a la diuresis, referidos a la concentración de creatinina en orina, ya que esta sustancia se excreta de modo más o menos constante.

En las recogidas de orina de 24 horas se suelen adicionar a los recipientes unos conservantes, que tienen como finalidad reducir el crecimiento bacteriano y la descomposición química, así como solubilizar los constituyentes urinarios con tendencia a precipitar, además de reducir la oxidación de compuestos inestables. Los conservantes más usados son:

- Formaldehído en tabletas, que retrasa la destrucción de cilindros y elementos formes. No interfiere con el examen químico y microscópico.
- Tolueno: funciona como antioxidante.
- Timol: puede dar falsos positivos para la albúmina.
- Carbonato sódico: se usa para la determinación de porfirinas.
- Ácido clorhídrico y ácido acético glacial: se usan en las determinaciones de catecolaminas y metabolitos, así como de 17-cetosteroides, 17-hidroxicorticoides, estrógenos y cortisol.

Es importante advertir al paciente sobre la presencia de estos productos o poner una etiqueta en el recipiente que informe al respecto para evitar quemaduras por el contacto con estos conservantes que son tóxicos o corrosivos.

Muestras para urocultivos. Técnicas especiales de recogida de orina

Las muestras para cultivos bacterianos de orina deben recogerse siempre en recipientes estériles. Para la correcta recogida debe cumplirse la siguiente secuencia:

- Lavar cuidadosamente los genitales externos con agua y jabón, para evitar contaminación por microorganismos de áreas circundantes.
- Se desprecia la primera fracción de la micción y la última, de modo que se recoge el chorro medio.

En algunos casos se usan métodos especiales de recogida, como:

- El sondaje uretral, cuando el paciente no puede orinar por sí mismo. Se realiza introduciendo una sonda por la uretra.
- Aspiración suprapúbica vesical: se aspira la orina de la vejiga con jeringa y aguja a través de la pared abdominal por encima del pubis. Está indicada solo cuando se busca la presencia de microorganismos anaerobios en orina.

MUESTRAS DE HECES

Como en otras muestras en las heces podemos hacer investigaciones químicas o microbiológicas. Dentro de las determinaciones químicas destacan:

- Análisis de sangre oculta: se realiza sobre pequeñas porciones de heces, a las que se adiciona un reactivo, que en la actualidad es un anticuerpo frente a la hemoglobina humana.
- Estudio del contenido en nitrógeno y grasas fecales: se realiza en heces recogidas durante 24 horas en un recipiente sin conservantes que se mantiene refrigerado todo el periodo de recogida.