



INSTITUTO DE TOXICOLOGÍA DE LA DEFENSA

*Hospital Central de la Defensa. Glorieta del Ejército s/n. 28047 MADRID.
Tel.: 914222625. Fax: 914222624
E- mails : toxicologia@oc.mde.es//jlopcol@oc.mde.es //mllobal@oc.mde.es*

ANÁLISIS DE ELEMENTOS TRAZA EN ESPECÍMENES BIOLÓGICOS: CONDICIONES GENERALES PARA LA TOMA DE MUESTRAS

Objetivo

Las bajas concentraciones de los elementos traza en el organismo en contraste con las altas concentraciones de alguno de ellos fuera de él, fundamentalmente formando parte importante del polvo, hacen que se requiera para su análisis unas especiales condiciones de obtención y manipulación de especímenes para asegurar la fiabilidad de los resultados.

Metodología

1. ANÁLISIS DE SANGRE

Como norma general se hará la toma de muestra tras un ayuno de entre 10 y 12 horas previas a la extracción, habiendo mantenido en los 10 días anteriores un régimen de vida y alimentación igual al habitual en el paciente.

La sala donde se realice la extracción debe estar especialmente limpia para evitar posibles contaminaciones. El personal que realice la extracción debe disponer de guantes que no desprendan partículas de talco u otros elementos.

Antes de la venopunción ha de limpiarse la zona con alcohol, dejando que se evapore, *evitando* siempre la utilización de desinfectantes que contengan *yodo*.

Si se van a extraer varios tubos de sangre, extraer *la sangre para el análisis de elementos traza en último lugar*; si no es así, extraer previamente un tubo de sangre y desecharlo.

El volumen mínimo de muestra será de 1 ml; volúmenes cercanos al mínimo impiden la posibilidad de repetición de la analítica.

Las muestras de sangre después de su extracción deberán homogeneizarse con suavidad y refrigerarse a 2-8° C hasta su envío al laboratorio; debiendo llegar al Laboratorio dentro de las 24 horas siguientes a la extracción.

El transporte será preferiblemente refrigerado entre 2 y 8°C aunque no es imprescindible. Nunca se deben sobrepasar los 25°C

- Para la determinación de colinesterasas se utilizará un tubo de vacío con **EDTA** de 5 mL.

Remitir los tubos al laboratorio en menos de 24 horas sin centrifugar manteniendo la cadena de frío en todo momento.

- Para la determinación de metales, la hora de extracción más adecuada es a primera hora de la mañana para evitar variaciones en los elementos que muestran ritmos circadianos (Zn, Cu, Fe...).

La manera óptima de realizar la extracción consiste en emplear jeringas de plástico (polipropileno incoloro) y agujas de titanio o acero inoxidable. Las jeringas no deben tener ningún componente de goma. Para la determinación de Cromo y Níquel las agujas deben estar recubiertas en su interior de silicona.

Es recomendable la utilización de *tubos especiales para la determinación de elementos traza* en sangre, que habitualmente contienen EDTA como anticoagulante. En caso de no disponer de estos, se podrían utilizar los tubos que contienen heparina.

1.1 ANÁLISIS DE SUERO

Las condiciones generales son las mismas que las citadas anteriormente, evitando siempre la producción de hemólisis, especialmente en el análisis de elementos en los que la concentración intraeritrocitaria es, al menos, diez veces superior a la sérica (Fe, Zn, Mn, ...). Si se van a extraer varios tubos, extraer la sangre para el análisis de elementos traza en último lugar; si no, extraer previamente un tubo de sangre y desecharlo.

Una vez realizada la venopunción con tubos de vacío, permitir que se produzca la coagulación durante 20 minutos. Posteriormente, separar el suero tras centrifugación a 2.500 rpm, durante 10-15 minutos, manteniendo siempre el tubo cerrado. Inmediatamente, se decantará en los tubos de polipropileno incoloros de cierre hermético especiales para elementos traza. Podría utilizarse una pipeta de polipropileno incoloro, libre de cualquier tipo de polvo o partícula, para trasvasar el suero a los tubos.

El volumen mínimo de muestra será de 0,5 mL, siendo 2 mL el volumen recomendado. Volúmenes próximos al mínimo impiden la repetición de la analítica.

Las muestras de suero una vez decantadas se refrigerarán entre 2-8° C o se congelarán a -20°C hasta su envío al laboratorio; debiendo llegar al mismo dentro de las 24 horas después de su extracción.

El transporte será preferiblemente refrigerado entre 2 y 8°C, aunque no es imprescindible. Nunca se deben sobrepasar los 25°C.

1.2 ANÁLISIS DE PLASMA

Las condiciones generales son las citadas anteriormente. Si se van a extraer varios tubos, extraer la sangre para el análisis de elementos traza en último lugar, si no, extraer previamente un tubo de sangre y desecharlo.

Para la determinación de metales se utilizará un tubo de vacío con **EDTA** o en su caso con **heparina** de 5 mL. El volumen mínimo de muestra será de 0.5 mL, siendo 2 mL el volumen de muestra recomendado. Volúmenes cercanos al mínimo impiden la repetición de la analítica.

Se debe centrifugar y separar el plasma antes de que transcurran 30 minutos de la extracción. Centrifugar a 2.000 rpm, 15 minutos, manteniendo siempre los tubos cerrados, e inmediatamente trasvasar el plasma a un tubo polipropileno incoloro de cierre hermético, especial para elementos

traza, con una pipeta del mismo material, libre de cualquier tipo de polvo o partícula.

Refrigerar a 2-8° C o congelar a -20° C hasta su envío al laboratorio; debiendo llegar al mismo dentro de las 24 horas después de su extracción.

El transporte será preferiblemente refrigerado entre 2 y 8°C, aunque no es imprescindible. Nunca se deben sobrepasar los 25°C.

En cualquier caso, los tubos deberán homogeneizarse con suavidad después de su extracción.

2. ANÁLISIS DE ORINA

La muestra idónea es la **Orina de 24h**. Por los problemas que plantea su obtención, se puede aceptar la de *primera hora de la mañana*, que se debe recoger emitiéndola directamente en dos recipientes de 20 ml de polipropileno incoloro. Cuando no sea posible esto, para su recogida se utilizará un envase específico de orina y de éste se transvasará a los recipientes correspondientes. Por poder constituir una fuente de contaminación de la muestra, **NO** se utilizarán otro tipo de envases no específicos para la recogida de orina.

El volumen mínimo de muestra será de 3 mL, siendo 40 mL el volumen de muestra recomendado. Volúmenes próximos al mínimo impiden la posibilidad de repetición de la analítica.

Al final de la recogida, comprobar que los tubos queden herméticamente cerrados para evitar posibles pérdidas o contaminaciones de su contenido.

Las muestras de orina se refrigerarán o congelarán inmediatamente, debiendo llegar al laboratorio dentro de las 24 horas después de su obtención y, a ser posible, sin que se rompa en ningún momento la cadena de frío.

Si se pretende analizar *Arsénico* se debe *evitar el consumo de pescado*, principalmente marisco, al menos cinco días antes de la recogida de la orina.

2.1 ANÁLISIS DE ORINA DE 24 HORAS

La recogida de orina de 24 horas se hará siguiendo literalmente las instrucciones que se especifican a continuación:

1º Es recomendable que el proceso comience a primera hora, entre (7 – 8 h.), aunque se podría empezar en cualquier momento del día. Se desechará la primera orina y se anotará la hora de la primera micción.

2º A partir de esta hora se recogerá en un recipiente de recogida de orina de 24h, de 2L o similar, toda la orina emitida en el transcurso del día y la noche. La orina se mantendrá refrigerada durante todo el proceso. La muestra recogida debe contener todas las micciones del día; si no fuera así, se invalidará.

3º Al día siguiente, a la misma hora del comienzo del día anterior, se recogerá la última micción y se remitirá toda la muestra al laboratorio. En caso de no poder remitir todo el volumen, se anotará la diuresis o volumen total de muestra, se homogeneizará su contenido y enviará en los envases adecuados, herméticamente cerrados. Puede congelarse la orina antes de su envío, asegurándose de mantener la cadena de frío en todo momento.

Si se pretende analizar *Arsénico* se debe *evitar el consumo de pescado*, principalmente marisco, al menos cinco días antes de su recogida.

3. ANÁLISIS DE PELO

Debe ser recogido de una zona lo más cercana posible al cuero cabelludo, preferiblemente zona de la nuca.

Lo idóneo, es obtener una muestra lo mas representativa posible, tomando la misma de varios puntos hasta conseguir una cantidad equivalente a una cucharada colmada de café o al grosor de un lápiz. Cuando se trata de pelo largo, recoger sólo dos centímetros de cabello contados a partir de la raíz.

El análisis no es fiable si el pelo ha sido teñido, blanqueado o, en general, tratado en los últimos dos meses. Como alternativa puede ser utilizado el vello púbico o axilar.

Los contaminantes ambientales pueden adherirse al cabello siendo difícil la discriminación con el contenido interior del mismo.

El envase, bote o bolsa, donde se almacene o transporte debe ser de polipropileno incoloro.

El transporte no tiene un requerimiento especial de temperatura.

4. ANÁLISIS DE TEJIDOS

Los especímenes deben obtenerse con los mismos cuidados que los sanguíneos, por lo que el personal que lo obtenga debe evitar cualquier tipo de contaminación.

Se deben utilizar bisturíes de acero inoxidable lavados con agua desionizada.

Inmediatamente después de la toma, depositar el espécimen en un envase de plástico (polipropileno) incoloro, de cierre estanco y libre de elementos traza.

No son adecuados los especímenes de tejidos conservados en formol, alcohol u otros fijadores, o los procedentes de inclusiones de parafina. La adición de solución salina también puede contaminar el espécimen.

En el caso de especímenes obtenidos por punción-aspiración con aguja fina conviene observar los mismos cuidados que para los especímenes obtenidos por biopsia percutánea o necropsia, aunque aquí, el peligro de contaminación es más elevado debido a la poca cantidad de tejido disponible. En el caso de ciertos metales ultratraza (Cr y Ni), la aguja debe estar recubierta interiormente de silicona.

Transporte y documentación

El transporte de las muestras deberá efectuarse con especial cuidado, a fin de evitar derramamientos, pérdidas o contaminación de las mismas por otras sustancias, así como posibles alteraciones debidas a acciones mecánicas, calentamiento excesivo o exposición a luz intensa. En el caso de orina, es necesario el transporte refrigerado entre 2 y 8°C.

Se recomienda utilizar el sistema triple básico para transporte de sustancias infecciosas y especímenes diagnósticos indicado por la OMS, que consiste en:

- El recipiente primario: Un recipiente estanco, etiquetado y a prueba de filtraciones, que contiene el espécimen. Éste, se envuelve en material absorbente suficiente para absorber en caso de ruptura, todo el fluido derramado.
- El recipiente secundario: Un segundo recipiente estanco, a prueba de filtraciones, que encierra y protege el (los) recipiente(s) primario(s). Se pueden colocar varios recipientes

primarios envueltos en un recipiente secundario. Se debe usar suficiente material absorbente para proteger a todos los recipientes primarios y evitar los choques entre ellos.

- Paquete externo de envío: El recipiente secundario se coloca en un paquete de envío que le protege tanto exteriormente como en su contenido de los elementos externos (daño físico, agua....) mientras se encuentra en tránsito.

Las muestras deberán estar clara e inequívocamente identificadas mediante caracteres alfanuméricos, componiendo una referencia lo más sencilla posible de la muestra; para ello, se utilizará un soporte o etiqueta que no pueda desprenderse fácilmente.

Con cada conjunto homogéneo de muestras se acompañará una solicitud de análisis en la que se encuentren referenciadas las muestras y la petición analítica para cada una de ellas, así como todos los datos auxiliares que parezcan oportunos a fin de lograr una mejor información o constancia documental del análisis. Emplear el volante de petición que se encuentra disponible en nuestra página web (<http://www.defensa.gob.es/itoxdef/>)

Asimismo, es conveniente reducir en lo posible el tiempo entre la obtención de las muestras y su envío al Laboratorio. Como norma general, *las muestras deberán tener entrada en el laboratorio en las 24 horas siguientes a la extracción* del espécimen.