

DUENT
\$500

UNIVERSIDAD DE MONTERREY

DIVISION DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS



UNIVERSIDAD
DE MONTERREY

LICENCIATURA EN QUIMICA CON ESPECIALIDAD
EN ANALISIS CLINICOS

ESTANDARIZACIÓN DE UNA TÉCNICA
GASOMÉTRICA PARA LA DETERMINACIÓN
DE CO EN PLASMA

SEMINARIO DE EVALUACION FINAL

MIGUEL GONZÁLEZ TAMEZ

BIBLIOTECA
UNIVERSIDAD DE MONTERREY

MONTERREY, N. L.

DICIEMBRE DE 1975

040.54

G643e

1975

800247

Con amor y agradecimiento

a mis padres

Miguel González Rivera

María Antonieta T. de González.

Con cariño a mis hermanas

Dolores, Antonieta y

Norma Patricia.

Con respeto y admiración al
Q.F.B. M.Sc. José Vargas Mena,
Director de esta División de
Ciencias Naturales y Exactas.

Con especial agradecimiento
a mis maestras

Q.F.B. Blanca Silvia Garza Fdz. y

Q.F.B. Ma. Teresa Garza Gallardo

por sus consejos y dirección en la
elaboración del presente trabajo.

Este trabajo se efectuó en el
Laboratorio de Análisis Clínicos de
Servicio Social "Labastida - UdeM"
bajo la dirección de la maestra
Q.F.B. Ma. Teresa Garza Gallardo.

I N D I C E

	<u>Página</u>
INTRODUCCION	1
MANEJO DEL APARATO DE KOPP-NATELSON	5
PLAN DE TRABAJO A REALIZAR.	8
Medición del Bióxido de Carbono del Plasma con el aparato de Kopp-Natelson.	9
Método	9
Cálculos.	11
Reactivos	12
Material.	12
Tabla de Factores	14
RESULTADOS	15
COMENTARIOS Y CONCLUSIONES	25
BIBLIOGRAFIA	27

I N T R O D U C C I O N

El conocimiento de la determinación de gases en sangre es útil en una gran variedad de situaciones clínicas, pero fundamentalmente se solicitan por dos razones principales:

- 1o.- Para determinar si el paciente está bien oxigenado.
- 2o.- Para determinar el estado ácido-básico del paciente basándose en la alteración de cualquiera de sus componentes, el "respiratorio" y el "metabólico".

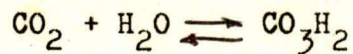
Las determinaciones de gases en sangre se llevan a cabo en sangre arterial y venosa.

La sangre arterial nos proporciona datos suficientes para valorar el funcionamiento pulmonar y la correcta ventilación de la sangre.

La venosa que es obtenida de una extremidad nos dará las condiciones metabólicas de dicha extremidad que podrá así ayudarnos para ver cómo se encuentra el estado metabólico del resto del organismo.

TRANSPORTE DE BIOXIDO DE CARBONO POR LA SANGRE.

El transporte de bióxido de carbono plantea al organismo un problema especial por el hecho de que se convierte rápidamente en ácido carbónico al disolverse:



Las células de un organismo humano en estado de reposo elaboran unos 200 ml. de bióxido de carbono por minuto.

Si esta cantidad tuviese que disolverse en el plasma - (el cual sólo puede llevar en solución 4.3 ml. de CO_2 por litro), la sangre tendría que circular a razón de 47 litros por minuto - en vez de los cuatro ó cinco. Además, dicha cantidad de bióxido de carbono daría a la sangre un pH de 4.5, condición imposible, - pues las células únicamente viven dentro de un corto margen en - el lado alcalino de la neutralidad (entre los pH 7.2 y 7.6). Las propiedades especiales de la hemoglobina permiten que cada litro de sangre transporte unos 50 ml. de CO_2 desde los tejidos de los alveolos, con sólo unas centésimas de diferencia en la unidad pH entre las sangres arterial y venosa. Parte de este bióxido de - carbono forma unión química suelta con la hemoglobina (carbamino hemoglobina), en tanto otra pequeña cantidad se haya en forma de ácido carbónico, pero la mayor parte de este último, se convier-

te en bicarbonatos al neutralizarse el ácido por los iones de so
dio ó potasio puestos en libertad al convertirse la oxihemoglobini
na en hemoglobina. La primera es de acidez más intensa que la -
segunda, de modo que algunos cationes, sodio ó potasio, se deses-
prenden así que la oxihemoglobina se disocia en oxígeno y hemoglo-
globina.

El bióxido de carbono pasa de los tejidos a la sangre-
y luego a los pulmones por difusión, desde regiones de gran ten-
sión a otras de tensión más reducida. La tensión de este gas en
los tejidos es de unos 60 mm. de mercurio; en la sangre venosa,-
de unos 47 mm. y en los alveolos de unos 35 mm.

En la sangre arterial, la tensión de CO es aproximada-
mente de 41 mm. de mercurio, de modo que la sangre lo contiene -
en cantidades notables después de haber pasado por los pulmones.
El doble proceso de convertir el bióxido de carbono en ácido carbo
bónico en los capilares de los tejidos, y de pasar a la inversa-
del último al primero para la difusión en los capilares del pul-
món, se acelera hasta 1,500 veces por la intervención de una en-
zima llamada anhidrasa carbónica.

En caso de dificultad en la función de eliminar el bióxi
do de carbono por los pulmones, como ocurre en la neumonía, aume
nenta su concentración en la sangre (en realidad la concentracione -

ción de bicarbonatos y de ácido carbónico) y entonces se aplica el término de acidosis a dicha circunstancia. Esto significa - que la sangre sea verdaderamente ácida (todavía se haya al lado alcalino de la escala). Si estas reservas se agotan, la sangre ya no puede conservarse alcalina, sino que se altera su pH y así sucumben las células del organismo al entrar en contacto con la sangre ácida.

MANEJO DEL APARATO DE KOPP-NATELSON

Cómo llenar el aparato de maercurio:

- 1.- El pistón se maneja de tal forma que debe quedar una pulgada adentro del reservorio.
- 2.- Abrir las dos llaves ó válvulas que hay en el aparato.
- 3.- Colocar un vaso limpio debajo de la pipeta para evitar pérdida de mercurio.
- 4.- Se coloca un embudo especial en la parte superior del manómetro.
- 5.- Llenar el embudo de mercurio hasta la mitad y esperar hasta que se vacíe todo el mercurio.
- 6.- Agregar más mercurio para llenar todo el aparato.
- 7.- Se quitan las burbujas del aparato con un ligero movimiento.
- 8.- Checar la presión con el tornillo reservorio.

Cómo hacer vacío en el aparato:

1.- Con las llaves abiertas introduzca lentamente el pistón dentro del reservorio hasta que el mercurio pase la llave de la cámara de reacción y luego cierre la llave.

2.- Seguir introduciendo el pistón y luego en el reservorio hasta que la columna de mercurio del manómetro pase la llave, luego se cierra la llave.

3.- Regresar el pistón lentamente; como el mercurio baja primero en el manómetro y luego baja en la cámara de reacción.

4.- El mercurio no queda necesariamente a la misma altura en ambos brazos.

NOTA: Cuando hay vacío, no abrir por ningún motivo las llaves.

Cómo quitar burbujas de aire en el aparato:

1.- Asegurarse de que todas las pinzas estén bien sujetas y no tener miedo de agitar el instrumento.

Cómo quitar el vacío:

- 1.- Subir lentamente el mercurio hasta que alcance - las llaves.
- 2.- Abra la llave del manómetro hasta que el mercurio suba un poco arriba de la llave y cierre esta llave.
- 3.- Abra la llave de la cámara de reacción y mueva el mercurio según la necesidad.

Enjuagar la cámara de reacción de la pipeta:

- 1.- Con movimiento del pistón hacer el llenado de la pipeta debiendo estar cerrada la llave del manómetro.
- 2.- Con agua destilada hervida(para que no tenga aire) se coloca en la pipeta un vaso de precipitado con agua y damos - en sentido contrario al pistón para que absorva el agua y limpie.
- 3.- Quitar el agua presionando el pistón.
- 4.- Ocasionalmente se puede limpiar con NaOH IN deján dolo unos 13 minutos y después enjuagar repetidas veces con agua.

PLAN DE TRABAJO A REALIZAR

- 1.- Correr un estándar de valor conocido, n veces - (desde 10 para arriba), hasta que dé un resultado reproducible.
- 2.- Tomar una muestra y correr n veces (desde 10 para arriba).
- 3.- Practicar la técnica n veces con personas normales.

En esta técnica se tomarán muestras a personas de diferentes edades.

Preparación del estándar:

Solución 0.025 M. de carbonato de sodio; ésta se hace pesando 0.265 grs. de carbonato de sodio secado a 110°C . por varias horas.

Guardando la solución en pequeños frascos con tapón de hule llenos hasta el tope y sellados con parafina para evitar la entrada de CO_2 .

Para poder conservar la muestra lo más que se pueda y que no sea alterada, tomamos una gota de amoníaco IN que se agre

ga a 1 ml. de plasma le conserva constante el CO_2 por 4 horas -
cuando menos.

NOTA: Secar por lo menos el carbonato de sodio por 2 horas.

Medición del Bióxido de Carbono del Plasma con el aparato de
Kopp-Natelson.

Fundamento.- Se libera el bióxido de carbono del bi -
carbonato añadiendo ácido láctico. El bióxido de carbono y -
otros gases de la sangre, se extraen bajo vacío parcial.

El bióxido de carbono se mide en términos de diferen -
cia de presión, a volúmen constante, antes y después de la absor -
ción del bióxido de carbono por hidróxido de sodio.

Método.

1.- Se obtiene sangre por punción venosa, en tubos he -
parinizados, recogiendo la sangre en tubo de ensaye heparinado.
El tubo debe llenarse completamente para evitar escape de bióxi -
do de carbono durante la centrifugación.

2.- Se centrifuga la muestra de sangre para obtener plasma.

3.- El aparato se llena completamente de mercurio.

4.- Ya que se obtuvo el plasma, quitamos el tapón del tubo y se saca el émbolo hasta que el nivel de plasma pasa un poco de la señal 0.03. Se quita el tubo, se sumerge la punta de la pipeta en mercurio, se avanza el émbolo hasta que el plasma llega a la señal 0.03, y se aspira 0.01 ml. de mercurio.

Siempre se limpia la pipeta del aparato con una torunda para que no haya combinación de los reactivos.

5.- Con la misma técnica, se aspiran 0.03 ml. de ácido láctico, 0.01 ml. de mercurio, 0.01 de Low Fow y finalmente mercurio hasta la señal de 0.12 ml.

6.- Se saca el émbolo hasta que el mercurio llega a la señal de 3 ml. Se agita durante un minuto.

7.- Se lleva otra vez el menisco a la señal 0.12 ml., y se toma la lectura del manómetro (P_1).

8.- Se introduce el émbolo hasta que el mercurio lle-

na por completo el manómetro. Se abre la llave.

9.- Se avanza el émbolo hasta que aparezca en la punta de la pipeta una gota de mercurio.

10.- Se introduce 0.03 ml. de hidróxido de sodio, y luego mercurio hasta la señal 0.12 ml. Se cierra la llave y se lleva otra vez el menisco hasta la señal de 3 ml. Se agita un minuto.

11.- Se avanza el émbolo hasta que el menisco se encuentra en la señal 0.12. Se toma la lectura del manómetro (P_2). Se anota la temperatura del aparato.

12.- La cámara de reacción se lava con agua, ácido láctico y agua otra vez. Cuando el instrumento no se utiliza, se deja abierta la llave.

Cálculos.

$$\text{Bióxido de carbono total} = (P_1 - P_2) \times f = \text{mM/l.}$$

El valor de f puede encontrarse en la tabla de factores. Los valores normales se encuentran entre 24 y 32 mM/l.

Reactivos.

Acido láctico al 10 por 100 v./v en agua destilada.

Hidróxido de sodio al 12 por 100 p./v.

Alcohol caprílico ó reactivo antiespuma.

Preparación de los reactivos para el uso:

En frascos con tapón de rosca, se ponen:

1.- Alrededor de 2.0 ml. de mercurio y ácido láctico al 10 por 100 v./v.

2.- Alrededor de 2.0 ml. de mercurio y alcohol caprílico ó reactivo antiespuma.

3.- Alrededor de 2.0 ml. de mercurio e hidróxido de sodio al 12 por 100.

4.- Acido láctico para el lavado.

5.- Agua destilada para lavar.

NOTA: Todos los reactivos deben privarse de gases, bajo vacío parcial, en un desecador de vacío.

Material.

1.- Agujas

2.- Jeringas

3.- Anticoagulante (HEPARINA)

- 4.- Anticoagulante (E.D.T.A.)
- 5.- Sangre
- 6.- Tubos
- 7.- Vaso de precipitado.
- 8.- Gradilla.
- 9.- Torunda
- 10.- Centrífuga.

En esta técnica se usa el anticoagulante heparina.

La heparina es el anticoagulante que interfiere menos en el análisis químico. Está presente en la mayoría de los tejidos del cuerpo, pero en menos concentraciones que las necesarias para impedir la coagulación de la sangre. La heparina se encuentra en concentraciones más altas en el hígado y los pulmones. Es un ácido mucoitinopolisulfúrico y se dispone de ella - en forma de sales sódicas, potásicas y amónicas.

Se cree que este anticoagulante actúa como una anti - trombina, esto es, impidiendo la transformación de protrombina - en trombina e impidiendo de este modo la formación de fibrina a partir de fibrinógeno.

También se ha mostrado que la heparina posee actividad

como antitromboplastina y de inhibición de la lisis de plaquetas.
La heparina se usa ya en solución porque no se disuelve.

Tabla de factores.

En la técnica se usaron dos anticoagulantes y el suero de la sangre; y también se trabajó con sangre de conejo.

FACTORES PARA EL CALCULO DEL CONTENIDO DE CO₂

Temperatura en °C.	Factores (mM/l)
17 - - - - -	0.242
18 - - - - -	0.240
19 - - - - -	0.238
20 - - - - -	0.237
21 - - - - -	0.236
22 - - - - -	0.235
23 - - - - -	0.234
24 - - - - -	0.233
25 - - - - -	0.232
26 - - - - -	0.231
27 - - - - -	0.230
28 - - - - -	0.229
29 - - - - -	0.228
30 - - - - -	0.227
31 - - - - -	0.225
32 - - - - -	0.224

R E S U L T A D O S

Preparación del estandard: Se pesó 0.165 grs. de carbonato de sodio ya seco y aforeado en 100 ml. de agua destilada. Se necesita saber cuántos mM/l tiene el estandard.

Procedimiento:

$$\text{Moles} = \text{grs.}/\text{P.M.} = \frac{0.265 \text{ grs.}}{106 \text{ grs.}} = .0025 \text{ Moles}/100 \text{ ml.}$$

$$\begin{array}{l} \text{Moles} \\ .0025 - 100 \text{ ml.} \\ X - 100 \text{ ml.} \end{array} \quad X = \frac{1000 \text{ mL.} \times .0025 \text{ grs.}}{100 \text{ mL.}} = .025 \text{ Molar}/1.$$

$$\begin{array}{l} 1 \text{ Mol.} - 10^2 \text{ mM} \\ .025 \text{ Mol.} - X \end{array} \quad X = \frac{.025 \text{ Moles} \times 1000 \text{ mM}}{1 \text{ Mol.}} \quad X = 25 \text{ mM}/1.$$

Ya conociendo el valor del estandard, se va a correr las veces necesarias hasta que me dé un resultado satisfactorio y así poder comparar los resultados que obtengo del estandard con el estandard de valor conocido.

Estos resultados obtenidos del estandard que se corrió se corrieron tres series de 10. Se sacó el promedio de cada una de las series, después se sacó la media y después se sacó la media final de las tres series.

St. (conc. de CO₂ en mM/1)

1a. serie	2a. serie	3a. serie
1.- 23.5	1.- 24.8	1.- 24.6
2.- 24.2	2.- 24.3	2.- 24.8
3.- 24.0	3.- 24.7	3.- 24.8
4.- 24.8	4.- 25.4	4.- 25.2
5.- 25.2	5.- 24.6	5.- 24.7
6.- 25.4	6.- 24.3	6.- 25.1
7.- 25.2	7.- 24.8	7.- 24.8
8.- 24.8	8.- 24.7	8.- 24.7
9.- 24.8	9.- 25.2	9.- 24.8
<u>10.- 24.6</u>	<u>10.- 25.2</u>	<u>10.- 24.7</u>
246.5	248.0	248.9
$\bar{X} = 24.7$ mM/1	$\bar{X} = 24.8$ mM/1	$\bar{X} = 24.8$ mM/1

$$\bar{X}_f = 24.8 \text{ mM/1}$$

El estandard que se preparó tenía 25 mM/1 y el resultado de los estándares que se corrieron fué $\bar{X}_f = 24.8$ mM/1. Como los valores son muy semejantes, quiere decir que el aparato está trabajando bien y se puede confiar en sus resultado.

Obteniendo estos resultados, empecé a trabajar con las muestras de sangre.

Concentración de Co_2 mM/1

Sangre obtenida utilizando Heparina como anticoagulante.

M U J E R E S

1.-	-----	26.2
2.-	-----	24.8
3.-	-----	25.7
4.-	-----	26.5
5.-	-----	27.0
6.-	-----	26.3
7.-	-----	26.1
8.-	-----	26.2
9.-	-----	24.3
10.-	-----	25.5

Concentración de Co_2 mM/l

Sangre obtenida utilizando E.D.T.A. como anticoagulante.

M U J E R E S

1.-	-----	27.3
2.-	-----	25.9
3.-	-----	26.8
4.-	-----	26.3
5.-	-----	25.8
6.-	-----	26.6
7.-	-----	26.7
8.-	-----	26.5
9.-	-----	24.8
10.-	-----	24.8

Concentración de Co_2 mM/l

Sangre obtenida sin anticoagulante.

M U J E R E S

1.-	-----	26.2
2.-	-----	-
3.-	-----	25.5
4.-	-----	27.0
5.-	-----	26.2
6.-	-----	26.5
7.-	-----	26.5
8.-	-----	26.1
9.-	-----	25.5
10.-	-----	27.3

Concentración de CO_2 mM/l

Sangre obtenida utilizando Heparina como anticoagulante.

H O M B R E S

1.-	-----	28.5
2.-	-----	26.6
3.-	-----	28.2
4.-	-----	25.9
5.-	-----	26.9
6.-	-----	28.3
7.-	-----	27.8
8.-	-----	27.2
9.-	-----	27.2
10.-	-----	24.8
11.-	-----	25.7
12.-	-----	25.9
13.-	-----	25.7
14.-	-----	26.4

Concentración de Co_2 mM/l

Sangre obtenida utilizando E.D.T.A. como anticoagulante.

H O M B R E S

1.-	-----	26.8
2.-	-----	26.2
3.-	-----	27.8
4.-	-----	25.7
5.-	-----	27.3
6.-	-----	27.3
7.-	-----	28.2
8.-	-----	26.5
9.-	-----	25.8
10.-	-----	26.5
11.-	-----	28.0
12.-	-----	27.1
13.-	-----	24.6
14.-	-----	28.3

Concentración de Co_2 mM/l

Sangre obtenida sin anticoagulante.

H O M B R E S

1.-	-----	29.3
2.-	-----	27.8
3.-	-----	26.2
4.-	-----	27.6
5.-	-----	28.4
6.-	-----	26.2
7.-	-----	25.7
8.-	-----	27.7
9.-	-----	27.7
10.-	-----	27.0
11.-	-----	26.2
12.-	-----	26.2
13.-	-----	27.5
14.-	-----	25.9

Concentración de Co_2 mM/1

Sangre obtenida utilizando Heparina como anticoagulante.

C O N E J O

1.-	-----	14.1
2.-	-----	14.3
3.-	-----	14.2
4.-	-----	14.4
5.-	-----	14.4
		<hr/>
		71.4

$$\bar{X} = 14.3 \text{ mM/1}$$

Concentración de Co_2 mM/1

Sangre obtenida utilizando E.D.T.A. como anticoagulante.

C O N E J O

1.-	-----	16.0
2.-	-----	16.4
3.-	-----	16.2
4.-	-----	16.0
5.-	-----	-
		<hr/>
		64.6

$$\bar{X} = 16.1 \text{ mM/1}$$

Concentración de Co_2 mM/1

Sangre obtenida sin anticoagulante.

C O N E J O

1.-	-----	14.0
2.-	-----	14.2
3.-	-----	14.0
4.-	-----	14.3
5.-	-----	14.1
		<hr/>
		71.1

$$\bar{X} = 14.1 \text{ mM/1}$$

COMENTARIOS Y CONCLUSIONES

Este trabajo se realizó con muestras de sangre de personas normales, y por eso, todos los resultados obtenidos se encuentran dentro de los valores normales.

Se trabajó con sangre utilizando dos anticoagulantes (heparina y E.D.T.A.) y con suero, con el objeto de encontrar cuál de los dos anticoagulantes era el mejor para trabajar, así como con el suero.

Al trabajar con las muestras de sangre de las personas, se obtenía sólo la sangre necesaria para analizarla, pero no se podía obtener un resultado comparativo, debido a que se determinaba sólo una vez la muestra; para haberlo obtenido, era preciso disponer de más cantidad de sangre, cosa imposible por no tener la facilidad de sacársela a un mismo paciente en más de una ocasión; por tal motivo, opté por sacarle sangre a un conejo.

Se hicieron cinco determinaciones de cada uno de los anticoagulantes al igual que al suero.

El anticoagulante heparina y el suero dan unos resultados muy parecidos, en cambio el E.D.T.A. dá un resultado más elevado, por lo que es mejor hacer las determinaciones con heparina

y con suero, que con E.D.T.A.

Los reactivos que se usan deben prepararse cada mes.

B I B L I O G R A F I A

Broughton, M.D. Joseph O. Conocimientos Básicos para la Interpretación de la Determinación de Gases en Sangre. Denver: -
1972. (Única Edición)

Lynch, Matthew, J. y otros colaboradores. Métodos de Laboratorio. - Segunda Edición. México: Interamericana, S. A. 1969.

Glifford Kimber, Diana. Manual de Anatomía y Fisiología. Tercera Edición. México: Interamericana, S. A. 1968.

REVUE DE LA

Université, M. Joseph G. Gagnier, M. J. Gagnier

Université de la Saskatchewan de Regina, Saskatchewan

1974 (Hiver, Été)

Lyons, Maurice, A. v. Jeanne, M. J. Gagnier, M. J. Gagnier

Université de la Saskatchewan, Regina, Saskatchewan

Université de la Saskatchewan, Regina, Saskatchewan

Université de la Saskatchewan, Regina, Saskatchewan

800247

FECHA DE DEVOLUCION

El último sello marca la fecha tope para ser devuelto este libro.

Vencido el plazo, el lector pagará 1.00 peso por cada día que pase.

Plata 153,314

--	--	--