Consejos y trucos en preanalítica



Tomo 1: Análisis de sangre en animales pequeños



Prólogo

El diagnóstico clínico de laboratorio es una parte esencial de la consulta veterinaria. Tras la anamnesis y la exploración clínica, en el plan de exploración se especifican las pruebas a solicitar para comprobar o excluir los diagnósticos diferenciales. A menudo, la hematología y la química clínica contribuyen de forma decisiva a la detección de



Prof. Dr. med. vet. Andreas Moritz

enfermedades. Especialmente desde que la biología molecular ha llegado a los laboratorios, se puede aclarar mejor la etiología de algunas enfermedades. Los resultados de laboratorio se seguirán interpretando en la monitorización, el control terapéutico y el pronóstico de las enfermedades.

La cita del folleto informativo Consejos y trucos en la preanalítica redactado por las empresas LABOKLIN y SARSTEDT ilustra la especial importancia del tema «... con la máxima precisión que ofrecen los equipos

de análisis modernos, el resultado de la medición solo puede ser tan bueno como lo permita la calidad de la muestra». La preanalítica se refiere a la parte del proceso de diagnóstico de laboratorio que tiene lugar antes del análisis real de las muestras. Esto incluye la correcta recolección, almacenamiento y transporte de muestras después de la anamnesis y la preparación del paciente para garantizar que los resultados sean fiables y significativos. Si bien los valores inverosímiles del proceso analítico pueden comprobarse en el laboratorio mediante la repetición de las mediciones, los errores en la preanalítica suelen ser irreparables. Por lo tanto, es importante realizar con sumo cuidado todos los pasos para minimizar los posibles errores.



Los ocho capítulos siguientes ilustran la información básica sobre el tema de forma comprensible e informativa: ¿Qué significa la preanalítica? - Preparación del paciente, -Resumen de los materiales de muestra y los tubos de muestras, - Errores frecuentes en la preanalítica, - Toma de la muestra, - Seguridad entorno a la toma de muestras, -Preparación de las pruebas de laboratorio, - Etiquetado, almacenamiento y transporte. Los textos gráficos en recuadros grises favorecen la comprensión, el aprendizaje y la memorización. Se dedica mucho espacio a la preparación y evaluación de frotis de sangre, y con razón. Las imágenes celulares de los frotis de sangre de perros, gatos y mamíferos pequeños son positivas y van algo más allá de la preanalítica. Al hacer clic en los códigos QR en lugares idóneos, se accede a tutoriales en línea en forma de vídeos de YouTube (por ejemplo, hacer un frotis de sangre, teñir un frotis de sangre).

Este excelente folleto es recomendable a modo de guía de referencia para la práctica para veterinarios, auxiliares veterinarios y empleados médico-técnicos, sino también para estudiantes de medicina veterinaria como un material de aprendizaje entretenido.

El Prof. Dr. med. vet. Andreas Moritz estudió Medicina Veterinaria en la Universidad Justus Liebig (JLU) de Giessen. Después del doctorado y habilitación para la especialidad de Medicina Interna y Diagnóstico de Laboratorio Clínico, fue nombrado profesor universitario en la especialidad de Medicina Veterinaria de la JLU. Después de estancias en el extranjero en St. Paul, Minnesota, EE. UU. y Gante, Bélgica, regresó a la JLU y, en 2006, fue nombrado profesor de Fisiopatología Clínica y Diagnóstico de Laboratorio Clínico. Además de dirigir el laboratorio central del departamento, a partir de 2017 asumió la dirección de la Clínica de Pequeños Animales, Medicina Interna. Es veterinario especialista en medicina interna y veterinario especialista en diagnóstico Clínico de laboratorio, así como especialista veterinario europeo EBVS® en medicina interna para animales pequeños (Dipl. ECVIM-CA) y miembro asociado del Colegio Europeo de Patología Clínica Veterinaria (ECVCP). Además de la formación de estudiantes de veterinaria, el Prof. Moritz participa en la cualificación profesional nacional e internacional de veterinarios en el campo de la medicina interna de pequeños animales y el diagnóstico de laboratorio Clínico. Actualmente es presidente de la Sociedad Alemana de Medicina de Pequeños Animales (DGK-DVG).





Primera edición en alemán: Consejos y trucos en la preanalítica Tomo 1: Análisis de sangre en animales pequeños Enero de 2024

Este libro ha sido elaborado en colaboración con el laboratorio veterinarionale la ABOKI IN y la empresa de tecnología médica SARSTEDT

Autoras: Dra. Annemarie Baur-Kaufhold, Dra. Maria Brockmann, Ida Dolle

Enlace a la versión en PDF: www.sarstedt.com/análisis-de-sangre-vet

© 2024 LABOKLIN & SARSTEDT – Todos los derechos reservados





Contenido

Pr	ólogo	2
1.	¿Qué significa preanalítica?	6
2.	Preparación del paciente	8
	2.1. Factores determinantes	10
	2.1.1. Edad, raza y condiciones de vida	10
	2.1.2. Selección de pruebas	11
	2.1.3. Medicación y biorritmos	12
	2.1.4. Secuencia de extracción	13
3.	Resumen de los materiales de muestra y tubos de	
	muestra	14
	3.1. Suero vs. plasma, ¿cuál es la diferencia?	16
	3.2. Resumen de diferentes materiales de muestra	17
	3.2.1. Códigos de colores de los tubos	18
	3.2.2. Tubo de heparina de litio	19
	3.2.3. Tubo de EDTA	20
	3.2.4. Tubo de suero	22
	3.2.5. Tubo de citrato	23
	3.2.6. Tubo de sodio	24
	3.3. ¿Qué tipo de muestra es adecuada	
	para cada prueba?	25
4.	Errores frecuentes en la preanalítica	26
	4.1. Factores de interferencia	27
	4.1.1. Hemólisis	28
	4.1.2. Hiperlipemia (lipemia)	30
	4.1.3. Ictericia	31
5.	Toma de la muestra	32
6.	Seguridad entorno a la toma de muestras	42
7.	Preparación de las pruebas de laboratorio	46
	7.1. Centrifugado	48
	7.2. ¿Cómo realizo un frotis de sangre?	51
8.	Etiquetado, almacenamiento y transporte	60
Re	eferencias bibliográficas	66







«Hola, ratón, eres un experto en laboratorios, ¿verdad?»

«Sí, estaré encantado de ayudarte con consejos y sugerencias».

«¡Me encanta! ¿Qué significa realmente preanalítica y por qué es importante saberlo?»

«La preanalítica incluye todos los procesos que tienen lugar antes del análisis de laboratorio y que pueden influir en el resultado de la medición. Al fin y al cabo, incluso con la máxima precisión que ofrecen los equipos de análisis modernos, el resultado de la medición solo puede ser tan bueno como lo permita la calidad de la muestra».

La preanalítica cubre todas las áreas que deben tenerse en cuenta antes del análisis real del material de la muestra. Esto incluye, entre otras cosas, la anamnesis y el examen clínico de los cuales se deriva la indicación para el análisis en cuestión. Además, esto incluye la preparación del paciente, la selección de los tubos, la preparación, el transporte, el almacenamiento, el acondicionamiento y la ruta de la muestra hasta que se comienza el análisis.

Como puede verse en la lista, la mayor parte de la preanalítica se lleva a cabo antes de que la muestra llegue al laboratorio. De este modo, en muchos casos el veterinario responsable puede contribuir decisivamente a una buena calidad de la muestra y, con ello, a un resultado representativo y evaluable. Debido a la gran cantidad de posibles fuentes de error, tiene sentido familiarizarse con varios aspectos de la preanalítica antes de realizar un análisis.



2. Preparación del paciente



Una visita agradable y sin estrés a su consulta para los pacientes y los dueños no solo resulta bueno para su imagen, sino que también tiene un impacto significativo en la calidad de la muestra.

Se debe informar con antelación al dueño de la mascota sobre la influencia de la actividad física o el estrés en los resultados de un análisis de sangre. En particular, las enzimas asociadas a los músculos, como CK, LDH y AST, pueden detectarse en el suero después de un esfuerzo físico. Además, también se espera un aumento de los niveles séricos de glucosa y lactato. A continuación se considerarán otros aspectos que conviene aclarar previamente.



«Los carnívoros se deben presentar preferiblemente en ayunas (aproximadamente 12 horas en ayunas) para la extracción de sangre, ya que la lipemia postprandial puede afectar a numerosos parámetros* y, en el peor de los casos, dar lugar a una muestra no evaluable».

* (Moritz et al., 2014)



2.1. Factores determinantes

A continuación se ofrece una visión general de los factores determinantes que pueden representar posibles fuentes de error en el diagnóstico. Por lo tanto, antes de cada análisis se deben conocer los datos sobre la identidad del animal, el tratamiento, el diagnóstico provisional y los procedimientos de prueba.

2.1.1. Edad, raza y condiciones de vida

- Animales jóvenes: Pueden tener valores más altos o más bajos en algunos parámetros (por ejemplo, AP, fosfato...) que los animales adultos (Humann-Ziehank y Ganter, 2012).
- Características específicas de la raza: En algunos parámetros existen desviaciones específicas de la raza (por ejemplo, los galgos: menor concentración de tiroxina, concentración de leucocitos y plaquetas, mayor hematocrito; Cavalier King Charles Spaniel: posible macrotrombocitopenia (Zaldívar-López et al., 2011).





2.1.2. Selección de pruebas

Antes de la extracción de sangre, se debe reflexionar sobre el análisis deseado y los requisitos previos:

- ¿El análisis solicitado está disponible para la especie animal?
- ¿El paciente debe encontrarse en una condición específica (por ejemplo, en ayunas) o permanecer en la consulta durante un cierto período de tiempo para llevar a cabo el análisis?
- ¿Se trata de un control del tratamiento o de una comprobación de la correcta regulación del medicamento?
- ¿Es necesario realizar pruebas de supresión o estimulación?
- ¿Qué material se necesita? ¿Es posible y sensato realizar el análisis deseado con el material de muestra disponible? Ejemplo: ¡Las pruebas de coagulación solo son posibles a partir de plasma de citrato!
- ¿Cuánto volumen de muestra es necesario para la prueba?
- ¿Puede la muestra sobrevivir al transporte al laboratorio de tal manera que el parámetro deseado aún pueda medirse de manera significativa? Es aconsejable comprobar previamente la estabilidad de los parámetros y aclarar las condiciones preanalíticas requeridas.

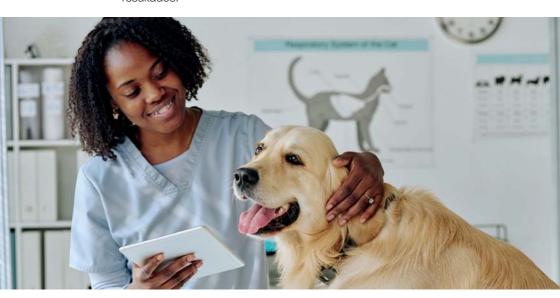
Siempre se debe evitar el estrés, la excitación y el esfuerzo físico intenso antes de la extracción de sangre (Moritz et al., 2014). Esto afecta especialmente a los animales salvajes, pero también a los animales con poca costumbre de manejo (Braun et al., 2015).



2.1.3. Medicación y biorritmos

- ¿Está el paciente tomando un medicamento en particular que pueda afectar a los resultados de la prueba y, por tanto, dar lugar a una posible interpretación errónea?
 (Ejemplos de combinaciones problemáticas son el tratamiento con fenobarbital en un epiléptico que debe someterse al mismo tiempo a pruebas de hipotiroidismo (Gaskill et al., 2000), tratamiento con glucocorticoides en un perro sometido a una prueba de estimulación con ACTH o a un tratamiento preantibiótico previo a la prueba microbiológica.)
- ¿Existe algún ritmo biológico que deba tenerse en cuenta para el parámetro solicitado?

Como ya se observa en esta selección, no siempre es posible controlar todos los factores determinantes preanalíticos. Sin embargo, se deberían documentar como mínimo tantos factores como sea posible (Braun *et al.*, 2015), para facilitar posteriormente la interpretación de los resultados.





2.1.4. Secuencia de extracción

Para la secuencia de extracción, se recomienda utilizar un esquema fijo y probado, como el esquema Gurr. El significado de los diferentes códigos de color se explica en el capítulo 3.2.1.

Código de colores de la UE, en base a la especificación BS 4851	Código de colores ISO según ISO 6710	
		Hemocultivo
		Suero /Suero-gel - Sangre
		Citrato – Sangre
		Heparina /Gel de heparina – Sangre
		EDTA – Sangre
		Fluoruro / Fluoruro de citrato – Sangre

Gurr et al., (2011)

"¡Vaya! Hemos llenado el tubo de EDTA con la muestra de sangre, no el tubo de suero. ¡Voy a tirarlo rápido!"

"¡Por favor, no lo hagas! Durante la extracción ya se ha producido la mezcla de la sangre con EDTA, lo que falsea los resultados de la medición. ¡Las muestras nunca deben rellenarse a posteriori!"

(Moritz et al., 2014)



3. Resumen de los materiales y tubos de muestra



Hay varios materiales disponibles para los análisis de sangre. A continuación realizaremos una breve presentación.

Hay sangre total, suero y plasma. Estos difieren en su composición. El procesamiento posterior de la muestra también se realiza en función del material de la muestra.

La sangre total se obtiene a partir de sangre total mezclada con un anticoagulante (por ejemplo, heparina o EDTA). Esto evita la coagulación de la sangre y permite la separación de los componentes líquidos de la sangre de los componentes sólidos.

Plasma se obtiene a partir de sangre total mezclada con un anticoagulante (por ejemplo, heparina o EDTA) y se separa inmediatamente en células sanguíneas (componentes sólidos) y plasma (componentes líquidos) mediante centrifugado. A diferencia del suero, el plasma contiene todos los factores de coagulación de la sangre, ya que no se han utilizado para la coagulación.

El suero también se obtiene de sangre total, pero sin añadir un anticoagulante, sino, por regla general, con un catalizador de la coagulación. La muestra debe coagularse y, por lo tanto, solo puede centrifugarse después de permanecer en posición vertical durante un mínimo de 30 minutos. El suero no contiene factores de coagulación, ya que estos se consumen durante el proceso de coagulación (Moritz et al., 2014).



«Si el tubo de suero se deja durante menos tiempo, puede dar lugar a una consistencia de suero similar a un gel que dificulta o imposibilita las mediciones posteriores».

(Moritz et al., 2014)



3.1. Suero vs. plasma, ¿cuál es la diferencia?

Suero	Plasma
sobrenadante libre de células de una muestra completamente coagulada	sobrenadante libre de células de una muestra que contiene anticoagulantes
no contiene fibrina	contiene fibrina
menor rendimiento	mayor rendimiento
la muestra debe coagularse antes de poder centrifugarse.	la muestra se puede centrifugar directamente.

El coágulo se produce en la forma en que las células sanguíneas se encuentran en el tubo.

Esto significa que si la S-Monovette® queda en posición horizontal después de la extracción de sangre, las células sanguíneas se sedimentan longitudinalmente a lo largo del tubo y conformarán una forma alargada.

Esta estructura resultante se puede comprimir durante el centrifugado. Sin embargo, después del centrifugado se vuelve a levantar en forma de acordeón («fenómeno de la salchicha»).



«El suero de una muestra de este tipo no se puede pipetear automáticamente. Por ese motivo, es importante almacenar las muestras de suero en posición vertical después de la extracción de sangre».





3.2. Resumen de varios materiales de muestra

En la siguiente tabla se muestran los principales tubos de muestras para la rutina diaria de la consulta, con sus principales aplicaciones:

Materiales de las muestras	Aplicaciones
Citrato	Coagulación sanguínea
Fluoruro de sodio	Glucosa/Lactato
Gel de suero	Bioquímica clínica
Heparina de litio	Hemograma/química clínica
EDTA	Hemograma



3.2.1. Códigos de colores de los tubos

¡No se irrite por los diferentes colores de los tubos!

Los tapones de los distintos tubos de muestra representan las diferentes preparaciones (= anticoagulantes/catalizadores de la coagulación) en los recipientes. Hay que tener en cuenta que existen dos códigos de color diferentes.

- «Código de color de la UE» (basado en la norma británica BS 4851)
- «Código de color ISO (basado en la norma internacional ISO 6710)

Lo mejor es acordar entre la consulta y el laboratorio en cuestión uno de los dos códigos de color. Sin embargo, además de la codificación por colores, la preparación exacta siempre se indica por escrito en el tubo.





3.2.2. Tubo de heparina de litio

Son los más versátiles entre los tubos, ya que la sangre con heparina de litio se puede utilizar para medir el recuento sanguíneo. El plasma con heparina de litio se puede utilizar para el análisis de numerosos parámetros clínico-químicos (para prevenir la hemólisis, lo mejor es enviarlo ya centrifugado si no se va a preparar ningún hemograma a partir del mismo material). El rendimiento del plasma también es ligeramente mayor que el del suero, ya que en el suero siempre queda una mayor proporción de líquido en el coágulo (Moritz et al., 2014). Los tubos de heparina de litio son especialmente populares entre quienes cuidan de pequeños mamíferos o de animales exóticos, ya que a menudo solo se puede extraer una pequeña cantidad de muestra de estos animales.

Atención: Debido al efecto inhibidor, las muestras en tubos de heparina de litio (Schrader et al., 2012) no son adecuadas

para análisis PCR.





«Importante: siempre que sea posible, se debe utilizar el mismo material (suero o plasma) para el análisis clínico químico. Esto se aplica especialmente a los análisis repetidos, ya que para algunos analitos, como el potasio, pueden existir diferentes concentraciones en suero y plasma».

(Humann-Ziehank v Ganter, 2015)



3.2.3. Tubo de EDTA

El EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) es un agente quelante. Funciona como anticoagulante al unirse a iones metálicos, especialmente iones de calcio, que son necesarios para la coagulación de la sangre. Se pueden distinguir diferentes formas de EDTA, por ejemplo, EDTA dipotásico y tricalio. (Moritz et al., 2014). La sangre en tubos de EDTA se utiliza principalmente para medir los recuentos sanguíneos.

Es importante agitar suavemente la muestra inmediatamente después de la extracción de sangre para evitar coágulos, ya que de lo contrario la muestra no se puede analizar de forma adecuada (Vap et al., 2012) Los tubos de EDTA nunca deben llenarse primero, ya que existe el riesgo de contaminación de la aguja con EDTA. Esto puede dar lugar a mediciones incorrectas en numerosos parámetros (Sharratt et al., 2009).

Las muestras de EDTA no solo son necesarias para medir los recuentos sanguíneos, sino también para determinar el grupo sanguíneo serológico. También se pueden utilizar para investigaciones genéticas y detección de patógenos por PCR (reacción en cadena de la polimerasa) si el patógeno está presente en la sangre. Sin embargo, para algunas pruebas, como ACTH o pro-BNP, se requiere plasma con EDTA centrifugado y pipeteado (para obtener más información sobre el centrifugado y el etiquetado de las muestras, consulte a partir de la página 48).







«Atención: en el caso de los reptiles y ciertas especies de aves, está contraindicado el uso de EDTA, ya que puede provocar hemólisis, lo que imposibilita una evaluación posterior».

(Nardini et al., 2013)



3.2.4. Tubos de suero

Por lo general, los tubos de suero contienen aceleradores de la coagulación que conducen a una coagulación rápida. El suero se puede utilizar para el análisis de la mayoría de los parámetros químicos clínicos, así como para numerosos métodos de prueba serológica. Además, como su nombre indica, la electroforesis sérica debe realizarse a partir de suero.





Tubos de suero-gel:

Estos se pueden utilizar de forma similar a los tubos de suero. La ventaja reside en que el gel se coloca entre las diferentes capas después del centrifugado, por lo que no es necesario pipetear el sobrenadante.





«Tengo aquí un tubo con la abreviatura CAT. ¿Solo es para gatos?"

«No, los tubos de suero también están marcados con la abreviatura CAT, que significa 'Clot Activator' (activador de coágulos)».

(Moritz et al., 2014)



Tubo de suero neutro:

Los tubos de suero neutro están marcados como «Neutral o Neutral Z». No están recubiertos y se utilizan como tubos de suero o para decantar muestras de plasma (por ejemplo, plasma de citrato).

3.2.5. Tubos de citrato

La proporción de mezcla para la sangre de citrato suele ser de 9:1. La sangre y/o el plasma de citrato son especialmente necesarios para los análisis de coagulación. Para una correcta manipulación, deben tenerse en cuenta algunos puntos importantes:

- 1. Los tubos de citrato nunca deben llenarse primero, (Moritz *et al.*, 2014), ya que el proceso de hemostasis inicia la coagulación.
- Aunque para todos los tubos debe tenerse cuidado de no sobrepasar la fecha de caducidad (Braun et al., 2015), es particularmente importante con estos tubos. En caso de duda, se pueden solicitar nuevos tubos de forma gratuita al laboratorio en cualquier momento.
- 3. Además, se debe tener cuidado de llenar los tubos solo exactamente hasta la marca durante la toma de muestras. El llenado excesivo o insuficiente conduce a resultados poco fiables de los análisis de coagulación. En algunos casos, la muestra ya no se puede coagular en absoluto en el laboratorio.
- 4. Para la mayoría de los parámetros de coagulación, se recomienda centrifugar y pipetear la muestra rápidamente, así como utilizar plasma de citrato refrigerado (ver 3.2.4. Tubos de suero neutro) para el análisis. Sin embargo, para la trombelastografía se necesita sangre total con citrato.



Neutral Z/27ml



La cantidad de llenado óptima varía entre los tubos. Para ver la marca de los niveles de llenado que se deben mantener en los dos tubos derechos, véase la flecha.

¡Debe evitarse a toda costa el llenado excesivo o insuficiente! Los coágulos no solo producen resultados de medición hematológica incorrectos, sino que también pueden bloquear los capilares de los dispositivos de hematología (Moritz et al., 2014).



¡Llenado insuficiente!

3.2.6. Tubos de sodio

Estos solo son adecuados para la medición de lactato y glucosa. Son especialmente importantes cuando la glucosa no puede medirse directamente en la consulta, sino que se envía a un laboratorio externo. El fluoruro de sodio está destinado a detener la degradación de la glucosa en la muestra, por lo que se pueden usar tubos de fluoruro de sodio para medir la concentración de glucosa (Braun et al., 2015).





3.3. ¿Qué tipo de muestra es adecuada para cada prueba?

No todos los materiales de muestra se pueden utilizar para todos los análisis. La siguiente tabla proporciona una visión general de qué análisis son posibles con qué material.

Posibilidades de uso de diferentes tipos de muestras

Anticoagulantes	Material	Hemograma	Frotis de sangre	Parámetros químicos clínicos	Serología	Coagulación
EDTA	Sangre total	Sí	Sí	No	No	No
EDTA	Plasma	No	No	Insuficiencia	Insuficiencia	No
Heparina de litio	Sangre total	Sí	Insuficiencia	No	No	No
Heparina de litio	Plasma	No	No	Sí	Sí	No
Citrato	Sangre total	No	Sí	No	No	Insuficiencia
Citrato	Plasma	No	No	No	No	Sí
NaF (Fluoruro de sodio)	Plasma	No	No	Glucosa, lactato	No	No
Tubo de suero sin anticoagulante	Suero	No	No	Sí	Sí	No



4. Errores frecuentes en la preanalítica



4.1. Factores de interferencia

Los factores de interferencia más frecuentes en la preanalítica son la hemólisis, los recipientes de muestras insuficientemente llenos y los coágulos de sangre. La siguiente tabla ofrece una primera visión general de las causas y proporciona información sobre las consecuencias.

Factores de interferencia frecuentes en la analítica y sus posibles causas

Factor de interferencia	Causa	Parámetros afectados	
Coágulos	Sobrellenado del tubo de EDTA, de heparina de litio o de citrato	Hemograma, incluido el recuento de plaquetas, parámetros de coagulación	
Hemólisis	Muestra no centrifugada, centrifugado incorrecto, errores de pipeteo, tiempo de almacenamiento prolongado, temperaturas muy elevadas, hielo	Son típicos varios parámetros clínico químicos, por ejemplo, una concentración de potasio incorrectamente alta y una concentración de calcio incorrectamente baja.	
Lipemia	Paciente sin ayuno, medicación, endocrinopatías y otros diversos cambios patológicos.	Diversos parámetros clínicos y químicos, así como algunos parámetros hematológicos; por ejemplo, puede ocurrir que los niveles de hemoglobina se midan incorrectamente en muestras lipénicas.	
Medicamen- tos	Tratamiento (p. ej., perfusión, glucocorticoides, antibióticos, sedantes)	Dependiendo del medicamento y de los parámetros (incorrectamente alto o incorrectamente bajo): por ejemplo, lo típico en la administración de glucocorticoides en perros es un aumento de las enzimas hepáticas (especialmente la fosfatasa alcalina).	
Llenado excesivo o insuficiente	No se ha alcanzado el nivel de llenado especificado	Parámetros de coagulación	



«La contaminación por EDTA, por ejemplo, por una secuencia incorrecta de toma de muestras, puede provocar cambios típicos, como niveles muy altos de potasio y bajos niveles de calcio».



4.1.1. Hemólisis

La hemólisis puede tener varias causas. A menudo se producen hemólisis *in vitro*, por ejemplo por hemostasis excesiva, las fuerzas físicas de cizallamiento (aguja demasiado fina, aguja doblada), punción venosa traumática («pinchazos»), mezclado o sacudida excesiva de la muestra de sangre, temperaturas demasiado bajas o elevadas, velocidad de centrifugado demasiado alta, contaminación con agua o desinfectantes, así como demasiada antigüedad de la muestra. Aunque la hemólisis *in vitro* es más frecuente, siempre se debe considerar la hemólisis *in vitro*.





Secuelas de una hemólisis

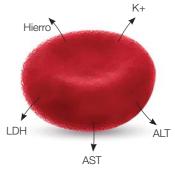
Liberación del contenido celular: diferencias en la concentración

Las sustancias que se encuentran en mayor concentración en los eritrocitos (concentración intracelular), se liberan en el suero/plasma (concentración extracelular) debido a la destrucción de la membrana celular de los eritrocitos durante la hemólisis. La consecuencia es resultados de medición incorrectamente altos.

Liberación del contenido celular – alteración visual Durante la hemólisis, la hemoglobina, el pigmento rojo de la sangre, también se libera en el suero/plasma. Esto puede dar lugar a señales de medición incorrectas en los análisis fotométricos debido a la auto absorción de hemoglobina.

Señal de medición incorrecta = resultado incorrecto

(Humann-Ziehank y Ganter, 2012)





«La hemólisis es la liberación de sustancias intraeritrocitarias después de un daño a la membrana celular. Debido a la aparición de un color rojo en el suero o en el plasma, se producen problemas durante la medición, especialmente en las pruebas fotométricas».



4.1.2. Hiperlipemia (lipemia)

La lipemia puede afectar a numerosos parámetros (Braun et al., 2015). Dependiendo del grado de lipemia, también puede darse el caso de que algunos parámetros no puedan medirse en absoluto. Por lo tanto, los carnívoros se deben presentar preferiblemente en ayunas (aproximadamente 12 horas en ayunas) para la extracción de sangre. Las causas de la lipemia pueden ser muy diferentes, aunque en el caso más simple se trata de una hiperlipidemia postprandial,

también pueden estar relacionadas con influencias dietéticas y farmacológicas, así como con causas endocrinológicas, inflamatorias, neoplásicas o genéticas (Xenoulis y Steiner, 2015). Por lo tanto, una hiperlipidemia recurrente se debería investigar más a fondo.

Muestra lipémica



«Los resultados de laboratorio correctos son esenciales para futuras decisiones de tratamiento, pero requieren una buena calidad de las muestras preanalíticas».



4.1.3. Ictericia

También en el caso de muestras ictéricas pueden producirse diversas interferencias durante la medición (Martínez-Subiela et al., 2002; Berlanda et al., 2020). Por lo tanto, es importante que las muestras se comprueben visualmente y mediante una medición específica para detectar la presencia de coloración amarillenta. Atención: ¡Es importante saber que el plasma o el suero de los caballos muestra fisiológicamente una clara coloración amarillenta!



Muestra ictérica



«¡Menos mal que los índices de hemólisis, lipemia e ictericia me dan una idea directa de la calidad de mi muestra! Esto me permite evaluar mejor cómo interpretar los resultados de las respectivas pruebas».

5. Toma de la muestra



Dependiendo de la especie animal, son adecuadas diferentes venas para la extracción de sangre venosa. El siguiente gráfico ofrece una visión general de las venas utilizadas con frecuencia en cada especie animal.



«¡Asegúrate siempre de protegerte durante la extracción y usa guantes»!

Posibles zonas de punción para la extracción de sangre

Especies	V. jugularis	V. saphena lateralis	V. saphena medialis	V. cephalica antebrachii	V. auricularis	V. facialis (plexo de la mejilla)
Perro	×	×		×		
Gato	×		×	×		
Conejo/liebre		×		×	(×)	
Hurón		×		×		
Cobaya		×		×		
Rata, ratón, jerbo		(×)				×
Caballo	×		(×)	(×)		

(Moritz et al., 2014)

En animales pequeños, la sangre se extrae preferentemente de la Vena cephalica antebrachii (vena cefálica antebraquial) mediante una aguja de 20 G. (Moritz et al., 2014).



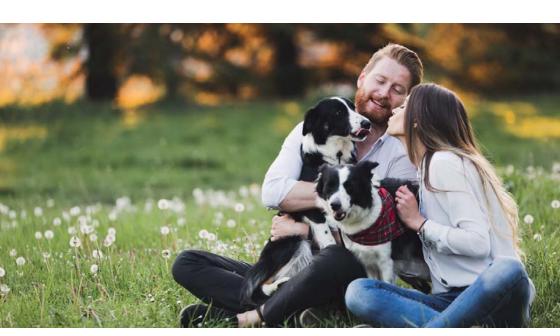
La solución adecuada para cada animal: juntos por un mayor bienestar animal.

A su consulta/clínica llega una gran variedad de especies de animales diferentes, todas ellas con sus propias necesidades. SARSTEDT le ofrece soluciones adecuadas para las preanalíticas en la medicina veterinaria.

La S-Monovette[®]: extracción de sangre segura, cuidadosa e higiénica en animales de menor tamaño

La Multivette[®]: extracción de sangre suave y sencilla en mascotas pequeñas solo mediante presión venosa La microaguja: recogida segura de cada gota de sangre incluso en animales especialmente sensibles, por ejemplo, con un microtubo o una Microvette®

Por lo general, se necesita sangre venosa para la mayoría de los análisis. Es poco frecuente que la sangre capilar o arterial sea necesaria o beneficiosa, por ejemplo, para una prueba de gases en sangre (sangre arterial) o si se sospecha de babesiosis (sangre capilar).





Se recomienda el siguiente procesamiento rutinario:

- ¡Preparar los utensilios necesarios en cantidades suficientes!
- 2. ¡Servirse de la asistencia de un ayudante!
- 3. ¡Desinfección de las manos! ¡Guantes!
- 4. ¡Examinar las venas y hacer una selección!
- 5. ¡Rasurar y desinfectar!
- 6. ¡No volver a palpar la zona de punción!
- 7. ¡Dejar que el ayudante realice la hemostasis!
- 8. ¡Retirar el embalaje protector de la aguja de seguridad!
- 9. Alinear el filo de la aguja hacia arriba.
- 10. Ángulo de inyección inferior a 30°.
- 11. Tensar la piel; fijar la vena.
- 12. Si fuera necesario, «advertir» al propietario.
- 13. Cuando haya flujo sanguíneo, aflojar la hemostasis.
- 14. Tomar muestras; ¡respetar el orden!

«¿Tienes algún otro consejo para la extracción de sangre?»

«Claro. Evita la hemostasis prolongada, que puede afectar a algunos parámetros, como el potasio. También se debe evitar el bombeo».

(Moritz et al., 2014)





Ver el vídeo



Extracción de sangre en un perro grande con una S-Monovette® y una aguja de seguridad

El sistema de extracción de sangre S-Monovette® le

permite realizar extracciones cerradas de sangre mediante dos técnicas. La técnica de aspiración ofrece una extracción de sangre adaptada al flujo sanguíneo y, por lo tanto, es suave. Si el flujo sanguíneo es intenso, el sistema dual de la S-Monovette® ofrece también la técnica de vacío convencional para la extracción de sangre.

En caso de extracción mediante S-Monovette® y aguja de seguridad se reduce considerablemente el riesgo de una transferencia de EDTA.

(Sulaiman, 2011)

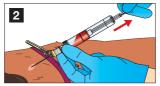


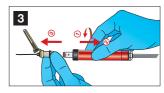
«En caso de duda sobre si la cantidad de muestra es suficiente para todas las pruebas solicitadas, se puede indicar simplemente el orden de procesamiento deseado. Atención: Si, por ejemplo, la sangre de heparina de litio se envía solo una vez y se anota un parámetro clínico-químico como el primer elemento de la secuencia, ¡no se puede medir el recuento sanguíneo después del centrifugado»!



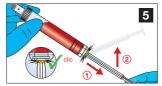
Extracción de sangre con el sistema de extracción de sangre S-Monovette®













Una vez que se ha preparado el paciente y se ha dispuesto todo para la extracción de sangre, se llevan a cabo los siguientes pasos.

- Con la aguja de seguridad, que está conectada a una S-Monovette[®], se efectúa la punción de la vena seleccionada.
- El vástago del émbolo de la S-Monovette® se retrae lentamente adaptándose al flujo sanguíneo hasta que el flujo sanguíneo se detiene.
- Con un movimiento de giro, la S-Monovette[®] se puede separar fácilmente de la aguja de seguridad. De este modo, también se pueden usar varias S-Monovette[®] con una aguja.
- 4. Una vez extraída, la aguja de seguridad se puede cerrar y desechar fácilmente.

- 5. Una vez que se han retirado todas las S-Monovette[®] y se ha atendido al paciente, se tira de todos los émbolos, hasta escuchar un clic. A continuación, se rompen los émbolos.
- 6. Ahora agite varias veces y la muestra estará lista para el laboratorio.

Para aplicar la técnica de vacío con la S-Monovette®, antes de la extracción de sangre se tira del émbolo hasta que se rompa. Esto crea un vacío "fresco" en el tubo de muestra. Si esta S-Monovette® se conecta a la aguja, el tubo se llena a través del vacío.





Ver el vídeo

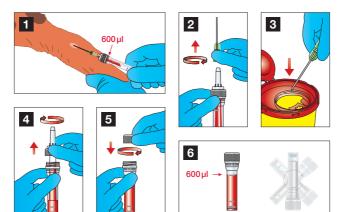


Extracción de sangre a un gato con una Multivette® 600 y una aguja Luer

La Multivette® 600 está diseñada y preparada para pequeños volúmenes de sangre de 600 µl. La extracción se realiza de forma prácticamente cerrada y se sirve de la presión venosa natural. Esto hace que la extracción sea especialmente suave y sencilla.

La muestra de sangre puede centrifugarse directamente en la Multivette® 600. Esto facilita la extracción de sangre y ahorra tiempo. El pequeño diámetro interior hace que el pipeteado tras el centrifugado sea especialmente sencillo. Además, la muestra puede enviarse al laboratorio cerrada de forma segura.

Extracción de sangre con la Multivette® 600



Una vez que se ha preparado el paciente y se ha dispuesto todo para la extracción de sangre, se llevan a cabo los siguientes pasos:

- 1. Con la Multivette ® y una aguja Luer estándar, la vena seleccionada se puede puncionar fácilmente. Gracias a los capilares internos, la Multivette® 600 se llena sola con la presión venosa. Esto hace que la extracción de sangre sea especialmente suave y sencilla. La línea de llenado muestra cuando la Multivette® 600 está completamente llena.
- 2. Después de la extracción, se retira la aguja Luer.
- Las agujas Luer se desechan en un contenedor de eliminación adecuado.
- Gracias al diseño especial de la Multivette® 600, la sangre fluye desde los capilares cuando la Multivette® se mantiene verticalmente y abre.
- 5. Con el tapón de rosca incluido se cierra la Multivette[®].
- 6. Ahora agite varias veces y la muestra estará lista para el laboratorio.



Ver el vídeo



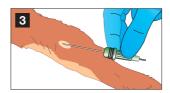
Extracción de sangre a un gato con una microaguja y un microtubo

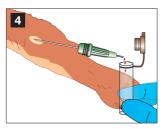
Sobre todo en animales muy pequeños y en condiciones venosas difíciles, cada gota de sangre cuenta. La **microaguja** especial garantiza que cada gota de sangre fluya hacia el tubo de muestras y no se coagule precozmente. Se puede seleccionar el tubo adecuado en función del volumen de muestra previsto. Los microtubos son adecuados para volúmenes de 1,3 ml. Para pacientes más pequeños, la Microvette® con un volumen de 100–500 µl es la elección adecuada.

Extracción de sangre con microaguja y microtubo













Una vez que se ha preparado el paciente y se ha dispuesto todo para la extracción de sangre, se llevan a cabo los siguientes pasos:

- 1. La microaguja se abre por el lado transparente.
- 2. A continuación, la microaguja se agarra por el mango para retirar la tapa protectora.
- 3. Puncionar la vena seleccionada.
- 4. La sangre se recoge en un tubo para muestras adecuado.
- Después de la extracción de sangre, la microaguja se desecha de forma segura en un contenedor para eliminación de residuos adecuado.
- Ahora agite varias veces y la muestra estará lista para el laboratorio.



6. Seguridad entorno a la toma de muestras



Se conocen varios agentes zoonóticos y sus peligros para los seres humanos, por ejemplo, bartonelas, brucelas, campilobacterias, clamidias, coxales, dermatofitos, giardias, criptosporidias, leptospiras, listerias, pasteureles, virus de la rabia, salmonelas, toxoplasmas y muchos otros (Jackson y Villarroel, 2012). Por lo tanto, es conveniente implementar en su propia consulta normas de seguridad específicas y aplicarlas mediante un uso regular. Esto incluye observar la higiene general y tomar las medidas de seguridad laboral adecuadas (guantes, mascarilla si es necesario, cubrir heridas abiertas, etc.). ¡Debe evitarse la (re)utilización de equipos potencialmente contaminados! También se debe tener cuidado de mantener las vacunas al día en todo momento. Para los veterinarios. la Comisión Permanente de Vacunación recomienda también la vacunación contra la rabia (Boletín epidemiológico, 2023).

Se deben proporcionar y utilizar contenedores de residuos adecuados para la recogida de objetos puntiagudos o afilados. Estos no deben llenarse en exceso.



Indicaciones de seguridad

- Utilice únicamente contenedores del tamaño adecuado para los objetos que desee eliminar
- Antes de comenzar el llenado, la tapa debe estar colocada y encajada
- Para evitar que el contenedor se vuelque, enrósquelo en el adaptador adhesivo o engánchelo en el soporte de pared
- No utilice la tapa del día para introducir a presión los objetos que desee eliminar
- Los bisturíes deben eliminarse con especial precaución en el contenedor (existe el riesgo de inclinación: de daños en los laterales y la base del contenedor)
- Deposite en el contenedor los objetos desechables solo verticalmente
- No introduzca a la fuerza ningún objeto en el recipiente.
- No introduzca líquidos en el contenedor.
- No introduzca la mano ni otras partes del cuerpo en el contenedor (¡peligro de lesión!).
- No tire el contenedor, no lo sacuda ni lo deje caer
- Antes de sellar el contenedor, asegúrese de que no sobresalga ningún objeto por la abertura
- Antes de eliminar el contenedor, compruebe que la tapa está firmemente cerrada

Recomendación:

Llene el contenedor Multi-Safe solo aprox. 2/3 de su volumen

No llene el contenedor Multi-Safe en exceso: *iriesgo de lesiones!*

Observar la línea de llenado





Procesamiento de muestras

Importante: Antes de cualquier procesamiento posterior, se debe garantizar que las muestras se puedan asignar claramente al paciente y estén etiquetadas correctamente. Puede encontrar más información en el Capítulo 8 «Etiquetado, almacenamiento y transporte».



Los tubos para muestras están correctamente etiquetados cuando:

- se garantiza una visión clara del contenido.
- se puede controlar el nivel de llenado.
- el tapón de rosca puede retirarse sin problemas.
- el tubo y la etiqueta no se atascan ni se quedan adheridos a la centrífuga.

"Voy a llevar las muestras directamente para su posterior procesamiento ...»

«¡Espera! Las muestras deben permanecer en la sala de extracción y junto al paciente hasta que se haya pegado el código de barras asignado al paciente».



7. Preparación de las pruebas de laboratorio



Antes de analizar las muestras in situ o de enviarlas a un laboratorio externo, las muestras de sangre deben prepararse adecuadamente. El uso de suero o plasma en lugar de sangre total tiene varias ventajas y es, en muchos casos, el método preferido por las siguientes razones:

- Estabilidad y durabilidad: las muestras de suero suelen ser más duraderas que las muestras de sangre total. De este modo, se puede prevenir la hemólisis relacionada con el almacenamiento. Esto es particularmente importante si la muestra se transporta a largas distancias o las pruebas se realizan en una fecha posterior.
- Estandarización: el uso de muestras de suero o plasma está estandarizado en laboratorios y analizadores.
- Mejor precisión y reproducibilidad: la extracción de células sanguíneas puede ayudar a mejorar la precisión y reproducibilidad de las pruebas de laboratorio (especialmente en el caso de los dispositivos de la propia consulta).

Sin embargo, también hay situaciones en las que se requieren muestras de sangre total, especialmente cuando se deben realizar pruebas específicas basadas en las propias células sanguíneas. Este es el caso de todos los análisis hematológicos. Como las células sanguíneas son muy sensibles a los cambios relacionados con el almacenamiento, la temperatura, el transporte y el paso del tiempo, el análisis debe realizarse, en el mejor de los casos, en un plazo de pocas horas a un máximo de dos días después de la extracción de la sangre (conservada en sangre total refrigerada). Para prevenir estos cambios (la degeneración celular comienza inmediatamente después de la extracción de sangre), también se deben tomar los frotis de sangre inmediatamente.



7.1. Centrifugado

El centrifugado de muestras de sangre se utiliza para separar los componentes sólidos (células, coágulos de sangre) de los componentes líquidos.

Para ello, se pueden utilizar diferentes centrífugas; sin embargo, es crucial que las muestras se centrifuguen, en el mejor de los casos, directamente en la consulta. Lo importante aquí es que se haga una distinción entre velocidad y fuerza g (fuerza gravitacional). La fuerza g es el valor relevante para un buen resultado del centrifugado. Por lo tanto, es de especial importancia a la hora de ajustar la centrífuga.

La fuerza g se puede calcular especificando el radio (cm) y la velocidad/minutos (rpm o rpm):



«El centrifugado es un proceso de separación física que se basa en diferentes proporciones de densidad de sustancias, como las células sanguíneas y el plasma».

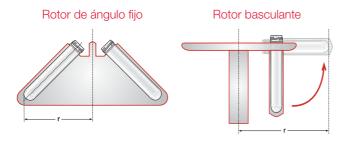
g = 11,18 × r ×
$$\left(\frac{n}{1.000}\right)^2$$

r = radio en cm
n = vueltas por minuto (min⁻¹)

Para convertir la fuerza g en velocidad/minuto [min⁻¹] o viceversa, puede utilizar el ordenador de centrifugado en www.sarstedt.com/service/zentrifugation.

Consulte la información del fabricante de la centrífuga para conocer el radio de la centrífuga r o determínelo utilizando la siguiente ilustración:

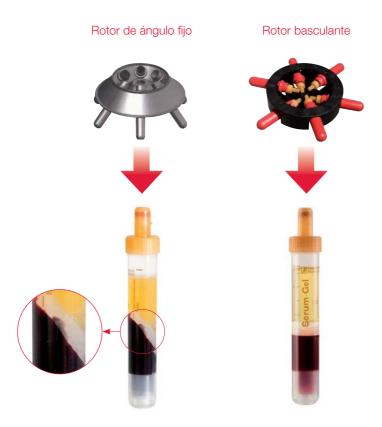






Diferencia entre rotor de ángulo fijo y rotor basculante

Para las S-Monovette® de gel recomendamos exclusivamente el uso de rotores basculantes. El recipiente de muestras en una centrífuga de ángulo fijo está montado rígidamente en un ángulo oblicuo. El recipiente de muestra de un rotor basculante se mueve de una posición vertical a una horizontal durante el centrifugado. De este modo, la fuerza puede actuar uniformemente desde la tapa hacia el suelo durante el centrifugado. El resultado es una capa de qel horizontal bien formada.





A menudo, las muestras de suero y de plasma se centrifugan a 2000 \times g durante aproximadamente 10–15 minutos.

Tras el centrifugado, el suero o plasma se separa del resto de la muestra de sangre para evitar una hemólisis posterior.

Tiempo mínimo de centrifugado

En base a BS 4851	En base a DIN ISO 6710 (Código ISO)	S-Monovette®	Fuerza centrífuga relativa (g)				
(código de la UE)			2.000 × g	2.500 × g	3.000 × g*	3.500 × g*	4.000 × g*
		Suero	10 min	10 min	6 min	4 min	4 min
		Gel de suero	15 min	10 min	4 min	4 min	4 min
		Heparina de litio	10 min	10 min	7 min	7 min	7 min
		Gel de heparina de litio	15 min	15 min	10 min	7 min	7 min
		Gel de heparina de Li+	8 min	7 min	5 min	4 min	4 min
		Gel de EDTA	15 min	10 min	10 min	7 min	7 min
		Citrato	9 min	8 min	7 min	6 min	5 min
		Fluoruro	9 min	8 min	7 min	6 min	5 min
		GlucoEXACT	9 min	8 min	7 min	6 min	5 min
	<u> </u>	Citrato PBM 1,8 ml Radio de centrifugado >17 cm	9 min	8 min	7 min	6 min	5 min
	<u></u>	Citrato PBM 1,8 ml Radio de centrifugado >9 cm a ≤ 17 cm	n. v.	n. v.	10 min	n. v.	n. v.

n. v. = no validado



Centrifugado a 20 °C

^{*} Válido para todas las S-Monovette®, excepto las de 8 mm ø (S-Monovette® pediátrica).

Recentrifugado

No se recomienda volver a centrifugar los tubos de muestra (CLSI, 2010).

De este modo, los componentes sanguíneos lisados pueden volver a difundirse desde las células sanguíneas centrifugadas al suero o al plasma. Como consecuencia, se alteran los parámetros asociados a las células, entre otros, como es el potasio, el fosfato, la glucosa o el LDH (Hue *et al.*, 1991).

7.2. ¿Cómo realizo un frotis de sangre?

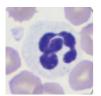
«¿Puedo usar cualquier sangre para el frotis de sangre?»

«No. La sangre debe estar anticoagulada. No se debe utilizar sangre total para suero ni los últimos restos de la aguja de extracción. El anticoagulante elegido es EDTA. Sin embargo, si es necesario, también se puede utilizar heparina de litio o citrato».

Como se señaló anteriormente, se deben enviar uno o más frotis de sangre para cada análisis de sangre. Esto es especialmente cierto si también se desea un examen citomorfológico adicional, por ejemplo, para verificar el recuento de plaquetas del dispositivo o si se sospechan precursores de eritrocitos nucleados, cambios en la morfología de los eritrocitos, leucocitos atípicos, desplazamiento a la izquierda o aglutinatos.



Hematología - Perro



Granulocito neutrófilo con núcleo segmentado



Granulocito neutrófilo con núcleo de banda



Granulocito neutrófilo hipersegmentado



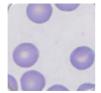
Granulocito eosinófilo con núcleo segmentado



Granulocito eosinófilo con núcleo segmentado en caso de galgo



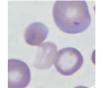
Linfocitos neoplásicos atípicos grandes



Eritrocitos fisiológicos



Policromasia

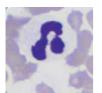


Anisocitosis



Trombocitos fisiológicos

Hematología - Gato



Granulocito neutrófilo con núcleo segmentado



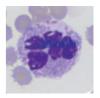
Granulocito neutrófilo con núcleo de banda



Granulocito neutrófilo hipersegmentado



Granulocito eosinófilo con núcleo segmentado



Granulocito basófilo con núcleo segmentado



Linfocito atípico-reactivo basófilo de tamaño mediano



Eritrocitos fisiológicos



Policromasia



Anisocitosis



Trombocitos fisiológicos





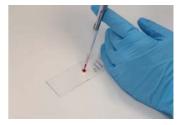
Monocito activado

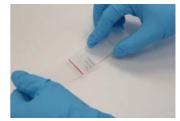


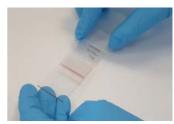
Linfocito pequeño estándar con núcleo maduro pequeño

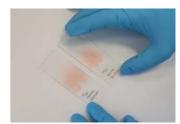


Linfocito pequeño reactivo pequeño con núcleo maduro







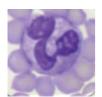




Trombocitosis



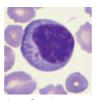
Macroplaquetas



Monocito



Linfocito pequeño estándar con núcleo maduro pequeño



«Large Granular Lymphocyte» (LGL)



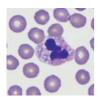
Agregados plaquetarios



Plaquetas atípicas



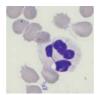
Hematología - Mamífero pequeño



Granulocito heterófilos con núcleo segmentado en conejo



Granulocito heterófilos con núcleo segmentado en cobaya



Granulocito neutrófilo con núcleo segmentado en hurón



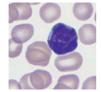
Heterófilo (o.), eosinófilo (u.) Cobaya



Monocito activado en conejo



Granulocito eosinófilo en hurón



Linfocito pequeño estándar con núcleo maduro en cobaya



Linfocito pequeño reactivado con núcleo maduro en conejo



Linfocito estándar en hurón



Linfocito nucleado atípicamente reactivo en conejo



Granulocito neutrófilo con núcleo de banda en hurón



«Large Granular Lymphocyte» (LGL) en cobaya



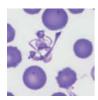
Célula Foa-Kurloff en cobaya



Eritrocitos fisiológicos en conejo



Anisocitosis, policromasia en conejo



Plaquetas atípicas en cobaya



Imagen general de reticulocitos en conejo



Eritroblasto en conejo



Reticulocitos grupo I Conejo



Reticulocitos grupo II Conejo

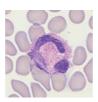




Monocitos en hurón



Granulocito eosinófilo en conejo



Granulocito eosinófilo en hurón



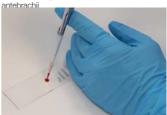
Zonas de punción en cobaya Izq.: V. saphena: Pinchazo lat. del tendón de Aquiles (tercio medio de la parte inferior de la pierna) en un grado < 45° dcha.: V. cephalica



Linfoma estadio V Grandes linfocitos atípicos neoplásticos en cobaya



Granulocito basófilo en hurón

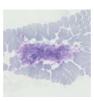




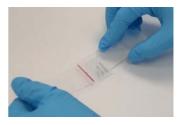
Policromasia en conejo

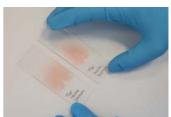


Trombocitos en hurón



Agregados plaquetarios en hurón





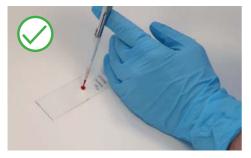


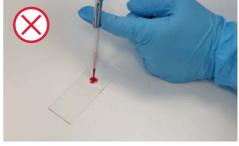
Reticulocitos grupo III Conejo



Reticulocitos grupo IV Conejo

Qué hacer y qué no hacer con los frotis de sangre





El portaobjetos se rotula con un lápiz (u otro bolígrafo resistente al alcohol y al agua). Se aplica una gota (aproximadamente 10 μ l) de sangre al portaobjetos.

Si la etiqueta falta, el frotis no se puede asignar a ningún cliente. La gota de sangre aplicada es demasiado grande.





Se coloca un segundo portaobjetos antes de la gota de sangre. El portaobjetos se retira hacia la gota de sangre hasta que toda la sangre se distribuye a lo largo del borde. La gota de sangre no se distribuye uniformemente a lo largo del borde del portaobjetos. Causa: El portaobjetos no se ha colocado plano o la distribución de la presión es desigual.

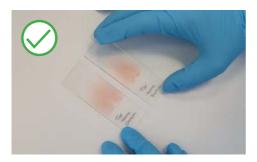




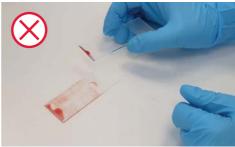
Con un movimiento rápido y uniforme, se empuja el portaobjetos en posición horizontal hacia el otro extremo (aprox. ángulo de 45°).



Un frotis demasiado lento provoca «paradas». La presión excesiva y el volumen excesivo de la muestra hacen que toda la sangre se deslice al extremo del frotis.



Se puede ver un frotis completo en "forma de lengua", de izquierda a derecha: cuerpo, monocapa (zona de evaluación) y bandera. Importante: ¡Tenga en cuenta el secado al aire antes de teñir y embalar en cajas de envío!



No se aprecia división en cuerpo, monocapa y bandera.

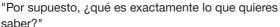
¡El frotis de sangre es muy poco homogéneo sin una zona de evaluación y por lo tanto no se puede evaluar!





Consejos y trucos frotis de sangre de perro (F) y ratón (A):

"Ratón, tengo problemas para hacer frotis de sangre. ¿Puedes ayudarme?"





El frotis de sangre no parece una lengua, tiene el mismo grosor desde la parte delantera hasta la trasera y se extiende más allá del borde. ¿Dónde está el error?

Probablemente la gota de sangre o el volumen de sangre era demasiado grande. Con menos sangre debería funcionar mejor. Si el frotis es demasiado corto, simplemente aumente lentamente el volumen de sangre. En los animales anémicos con sangre muy fina, resulta útil utilizar una gota de sangre más pequeña.

También puede ser que el ángulo de frotis sea demasiado superficial (< 45°). El ángulo se utiliza para controlar la longitud del frotis. Un ángulo pronunciado (> 45°) hace que el ángulo sea bastante corto, mientras que un ángulo plano (< 45°) hace que el frotis sea largo.

Mi frotis de sangre no es homogéneo sino que contiene «paradas». ¿Cómo cambio eso?

Estas «paradas» pueden tener diferentes causas. A menudo se producen por un frotis muy lento con mucho material.

También es importante no ralentizar el frotis. Una vez que haya comenzado con el frotis, se debe terminar rápidamente.

Mi frotis de sangre tiene un grosor diferente en ambos lados y contiene estrías. ¿Por qué?

Es muy probable que el portaobjetos/ cubreobjetos que se estaba aplicando no se haya colocado plano sobre el otro portaobjetos o que las condiciones de presión no se hayan distribuido uniformemente durante la aplicación. Lo mejor es colocar el portaobjetos/ cubreobjetos que se extiende muy por delante de la gota de sangre y moverlo de un lado a otro. Al hacerlo, se tiene una sensación de presión y como si algo crujiera. A veces, el filo no es ideal o hay suciedad



en el portaobjetos. Puedes intentar limpiarlo o usar uno nuevo para el frotis.

Puede que el portaobjetos se sujete demasiado inclinado. Un ángulo menor da como resultado un frotis más largo.

Las células de mis frotis de sangre están rotas, ¿por qué?

¿Puedo ver en algún sitio cómo hacer un frotis?

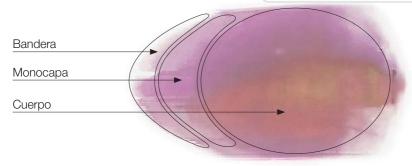
Es posible que se haya aplicado demasiada presión. Esto se puede practicar haciendo el frotis con un cubreobjetos. Si se aplica demasiada presión, se romperá rápidamente. Sin embargo, a veces las células sanguíneas son muy frágiles y se descomponen rápidamente (por ejemplo, en caso de leucemia, inflamación grave o anemia).

Sí. Por ejemplo, en YouTube tenemos un vídeo corto sobre ello, «LABOKLIN – Frotis de sangre» (véase la página 54).

Mi frotis de sangre es demasiado espeso y demasiado corto, ¿a qué se debe?

¿Cuántos frotis de sangre tengo que hacer antes de conseguir «el perfecto»?

Esa es una pregunta legítima, pero desafortunadamente no puedo dar una respuesta general. Pero puedo prometer que en algún momento tendrás éxito y luego siempre podrás repetirlo. Hacer un buen frotis de sangre y evaluable es solo una cuestión de práctica. El ojo del espectador decide si se trata de un arte (o no).



Diferentes áreas de un frotis de sangre



8. Etiquetado, almacenamiento y transporte



Dependiendo de los parámetros del análisis, después de tomar la muestra se deben tener en cuenta una serie de factores adicionales. Mientras que para algunos análisis también es posible utilizar material antiguo y no refrigerado (principalmente análisis relacionados con el material genético, como el diagnóstico de patógenos mediante PCR), para otras es necesario garantizar una refrigeración constante.

En cualquier caso, se deben minimizar las fuertes fluctuaciones de temperatura durante la preparación para el envío a un laboratorio externo, por ejemplo evitando el sobrecalentamiento de la muestra en un vehículo refrigerado (Humann-Ziehank y Ganter, 2012). Para algunos análisis se recomienda una protección adicional contra la luz, por ejemplo, una prueba de bilirrubina (Braun et al., 2015). Los requisitos exactos se pueden consultar en la información de la solicitud de análisis junto a la respectiva prueba. Por ejemplo, un signo de exclamación significa que, en el mejor de los casos, la muestra debe almacenarse y transportarse permanentemente congelada. Además, todos los clientes pueden solicitar listas específicas en las que se enumeren los parámetros más sensibles. Cabe señalar que no solo los dispositivos para enfriado (congelación), sino también las muestras deben atemperarse antes del transporte, ya que la capacidad de enfriamiento/congelación de la batería y la caja por sí sola no es suficiente para enfriar o congelar adecuadamente las muestras. Se puede adquirir una caja especial en LABOKLIN. Esta consta de una caja de poliestireno y un paquete especial de refrigeración/congelación de muestras con el que se pueden enfriar 2 tubos de muestras. Esta caja se personaliza con la compra y se devuelve gratuitamente después de la recepción de la muestra, así como las baterías de refrigeración siempre que estén marcadas adecuadamente (tiempo de circulación aprox. 10 días hábiles) (plazo de entrega aprox. 10 días laborables). El material centrifugado siempre debe almacenarse en el frigorífico; para un almacenamiento más prolongado, se recomienda una temperatura de almacenamiento de -20 °C, o incluso mejor -70 °C (Moritz et al., 2014).





«La calidad de muchas muestras de suero centrifugadas y pipeteadas normalmente mejora con la congelación de la muestra; sin embargo, se deben evitar la congelación y descongelación repetidas».

«¡Exacto! Pero atención: ¡La sangre total no debe congelarse bajo ninguna circunstancia! ¡La consecuencia sería una hemólisis total!"

«Y los frotis de sangre tampoco deben congelarse ni guardarse en el frigorífico».

(Vap et al., 2012)



Lista de verificación para el transporte

- Cerrar las muestras (evitar la evaporación)
- Almacenar suero/plasma a una temperatura de 4 a 8 °C
- Conservar en posición vertical.
- Guardar el EDTA a temperatura ambiente para el hemograma.
- Evitar congelar y descongelar varias veces
- Proteja las mediciones sensibles a la luz («parámetros solares») de la luz del día (por ejemplo, bilirrubina)
- Utilizar una preparación especial para la estabilización (por ejemplo, S-Monovette[®] HCY-Z-Gel para homocisteína)





El envasado y el etiquetado cuidadosos también son importantes. Esto garantiza la asignación correcta de la muestra en el laboratorio, evita pérdidas y fugas de la muestra y protege a todos los que entran en contacto con la muestra. Por ejemplo, los guantes de inspección no son un envase adecuado para las muestras de heces, las muestras de orina en los frascos de mermelada presentan un riesgo de fractura, así como la posibilidad de un aumento incorrecto del valor de la glucosa, y las agujas colocadas en la jeringa son una fuente innecesaria (y, lamentablemente, a menudo subestimada) de peligro. Cuando se envíen muestras con un potencial zoonótico especialmente elevado (por ejemplo, monos o perros sospechosos de leptospirosis), se informará previamente al laboratorio y la información correspondiente se pondrá claramente en el embalaje exterior.



Etiquetado ideal en la solicitud de análisis: marque la prueba deseada para para evitar errores de interpretación. Importante: ¡No olvidar el informe preliminar y los posibles tratamientos previos!



«El material correcto de la muestra siempre está directamente en la solicitud junto al análisis deseado. ¡Pero en caso de incertidumbre, una breve llamada al laboratorio también puede ayudar»!





El etiquetado no solo incluye información sobre el paciente y el código de barras específico de la consulta, sino también información sobre el tipo de muestra (Gunn-Christie et al., 2012): ¿la muestra es orina, suero o líquido cefalorraquídeo? ¿Plasma de EDTA centrifugado, plasma de citrato o plasma de heparina de litio? Esto no siempre es evidente de inmediato, pero puede determinar si es posible realizar un análisis concreto a partir del material presentado. Se pueden ahorrar recursos y tiempo para los empleados de la consulta y del laboratorio si el material está correctamente anotado.



Para garantizar la asignación de una muestra a un paciente, la información del respectivo paciente no solo debe indicarse en la solicitud de análisis, sino también directamente en la muestra. Especialmente importante aquí: ¡El código de barras de la muestra debe coincidir con el código de barras de la solicitud de análisis!

Tenga cuidado con los tubos con tapas abatibles: existe el riesgo de que se abran durante el transporte y presenten fugas.

Un correcto envase adicional (recipiente secundario) para cada muestra individual, incluida una plantilla absorbente, garantiza la máxima protección. Todas las muestras, incluido el recipiente secundario, deben volver a envasarse en un embalaje externo.







«¡El remitente siempre es responsable del transporte correcto de la muestra!»







Todas las muestras deben estar etiquetadas en el embalaje externo: con el rótulo «muestra veterinaria exenta» para muestras no infecciosas o con la pegatina UN3373 según el Reglamento de Sustancias Peligrosas para muestras veterinarias potencialmente infecciosas. Las pegatinas necesarias se pueden solicitar al laboratorio.



Los principales requisitos para el embalaje son:

- Suficientemente resistente para que los impactos/cargas (vibraciones/ cambios de temperatura/humedad/presión) no puedan causar daños/ fugas de contenido durante el transporte normal.
- Se requiere un tubo para muestras o un contenedor primario, así como un contenedor de envío o un embalaje secundario, así como un embalaje exterior, por lo que el embalaje secundario o el exterior (por ejemplo, la cubierta protectora/bolsa de envío) deben ser rígidos. Para el transporte aéreo, siempre es necesario un embalaje exterior rígido, que debe soportar una presión interna de 95 kPa (0,95 bar) y temperaturas de -40 a 55 °C (para los requisitos IATA/Post/DHL, véase más adelante).
- El embalaje externo debe tener unas dimensiones mínimas de 100 x 100 mm en una superficie.
- El paquete debe pasar una prueba de caída desde una altura mínima de 1,2 m.



Referencias bibliográficas

Berlanda, Michele; Valente, Carlotta; Bonsembiante, Federico; Badon, Tamara; Bedin, Silvia; Contiero, Barbara *et al.*, (2020): Evaluation of an automated immunoturbidimetric assay for detecting canine C-reactive protein. En: Journal of veterinary diagnostic investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc 32 (6), págs. 948–952. DOI: 10.1177/1040638720960065.

Braun, Jean-Pierre; Bourgès-Abella, Nathalie; Geffré, Anne; Concordet, Didier; Trumel, Cathy (2015): The preanalytic phase in veterinary clinical pathology. En: Veterinary clinical pathology 44 (1), págs. 8–25. DOI: 10.1111/vcp.12206.

CLSI, GP44-A4 2010; § 5.4.3

Epidemiologisches Bulletin [Boletín epidemiológico] 4/2023, último acceso julio de 2023.

https://www.rki.de/DE/Content/Kommissionen/STIKO/Empfehlungen/Impfempfehlungen node.html

Gaskill, C. L.; Burton, S. A.; Gelens, H. C.; Ihle, S. L.; Miller, J. B.; Shaw, D. H. et al., (2000): Changes in serum thyroxine and thyroid-stimulating hormone concentrations in epileptic dogs receiving phenobarbital for one year. En: Journal of veterinary pharmacology and therapeutics 23 (4), págs. 243–249. DOI: 10.1046/j.1365-2885.2000.00278.x.

Gunn-Christie, Rebekah G.; Flatland, Bente; Friedrichs, Kristen R.; Szladovits, Balazs; Harr, Kendal E.; Ruotsalo, Kristiina *et al.*, (2012): ASVCP quality assurance guidelines: control of preanalytical, analytical, and postanalytical factors for urinalysis, cytology, and clinical chemistry in veterinary laboratories. En: Veterinary clinical pathology 41 (1), págs. 18–26. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2012.00412.x.

Gurr et al.; Musterstandardarbeitsanweisung Präanalytik [Procedimientos estandarizados de trabajo para la fase preanalítica de las muestras]; J Lab Med (2011)

Hue et al., (1991): Observed changes in serum potassium concentration following repeat centrifugation of SARSTEDT Serum Gel Safety Monovettes after storage; Ann Clin Biochem; 28: 309-10

Humann-Ziehank, E.; Ganter, M. (2012): Pre-analytical factors affecting the results of laboratory blood analyses in farm animal veterinary diagnostics. En: Animal: an international journal of animal bioscience 6 (7), págs. 1115–1123. DOI: 10.1017/S1751731111002679.



Jackson, J.; Villarroel, A. (2012): A survey of the risk of zoonoses for veterinarians. En: Zoonoses and public health 59 (3), págs.193–201. DOI: 10.1111/j.1863-2378.2011.01432.x.

Martínez-Subiela, S.; Tecles, F.; Montes, A.; Gutiérrez, C.; Cerón, J. J. (2002): Effects of haemolysis, lipaemia, bilirubinaemia and fibrinogen on protein electropherogram of canine samples analysed by capillary zone electrophoresis. En: Veterinary journal (London, England: 1997) 164 (3), págs. 261–268. DOI: 10.1053/tyjl.2001.0672.

Moritz, A.; Schwendewein, I.; Kraft, W. (2014) En: Moritz, A (Hrsg.). Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin [Diagnóstico clínico de laboratorio en medicina veterinaria]. 7.ª edición, Schattauer GmbH, Stuttgart.

Nardini, Giordano; Leopardi, Stefania; Bielli, Mattia (2013): Clinical hematology in reptilian species. En: The veterinary clinics of North America. Exotic animal practice 16 (1), págs. 1–30. DOI: 10.1016/j.cvex.2012.09.001.

Schrader, C.; Schielke, A.; Ellerbroek, L.; Johne, R. (2012): PCR inhibitors - occurrence, properties and removal. En: Journal of applied microbiology 113 (5), págs. 1014–1026. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2012.05384.x).

Sharratt, C. L.; Gilbert, C. J.; Cornes, M. C.; Ford, C.; Gama, R. (2009): EDTA sample contamination is common and often undetected, putting patients at unnecessary risk of harm. En: International journal of clinical practice 63 (8), págs. 1259–1262. DOI: 10.1111/j.1742-1241.2008.01981.x.

Sulaiman, R. A.; Michael P Cornes, M. P.; Whitehead, S. J.; Othonos, N.; Ford, C.; Gama, R. (2011): Effect of order of draw samples during phlebotomy on routine biochemistry results. J Clin Pathol. 64(11): 1019-20

Vap, Linda M.; Harr, Kendal E.; Arnold, Jill E.; Freeman, Kathleen P.; Getzy, Karen; Lester, Sally; Friedrichs, Kristen R. (2012): ASVCP quality assurance guidelines: control of preanalytical and analytical factors for hematology for mammalian and nonmammalian species, hemostasis, and crossmatching in veterinary laboratories. En: Veterinary clinical pathology 41 (1), págs. 8–17. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2012.00413.x.

Xenoulis, P. G.; Steiner, J. M. (2015): Canine hyperlipidaemia. En: The Journal of small animal practice 56 (10), págs. 595–605. DOI: 10.1111/jsap.12396.

Zaldívar-López, S.; Marín, L. M.; lazbik, M. C.; Westendorf-Stingle, N.; Hensley, S.; Couto, C. G. (2011): Clinical pathology of Greyhounds and other sighthounds. En: Veterinary clinical pathology 40 (4), págs. 414–425. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2011.00360.x.



08430 La Roca del Vallès

Tel: +34 93 846 41 03 Fax: +34 93 846 39 78

info.es@sarstedt.com · www.sarstedt.com