Normas para la extracción de muestras

El Laboratorio facilita el material necesario para la extracción de muestras.
Las muestras de sangre deben ser tomadas de animales en ayunas de 8-12 horas.

1. SANGRE ENTERA

- EDTA: Hematología/Parásitos hemáticos
- Litio-Heparina: uso en aves y reptiles con eritrocitos nucleados

  - Extraer la sangre de la vena evitando la hemólisis y llenar el tubo hasta al límite aconsejado (importante mantener la proporción entre sangre y anticoagulante).
  - Extraer la muestra preferentemente de la vena yugular.
  - Se recomienda usar agujas de 21G o 22G para la extracción.
  - Agitar el tubo con suavidad invirtiéndolo de 10 a 20 veces aproximadamente para evitar la formación de coágulos.
  - Dejar reposar 15 minutos a temperatura ambiente y refrigerar a 4°C.
  - No congelar.

2. PLASMA EDTA

- Determinadas hormonas y bioquímicas especificadas en la tabla de análisis.

  - Seguir las indicaciones del apartado 1.
  - El plasma se obtiene después de centrifugar la muestra a 2.000 rpm durante 10 minutos y traspasarlo a otro tubo seco.
  - Refrigerar a 4°C.

3. PLASMA CITRATO

- Coagulación

  - Seguir las indicaciones del apartado 1.
  - La muestra debe de ser extraída preferentemente de la vena Yugular y en primera intención (debe ser una extracción limpia).
  - Se recomienda el uso de agujas de 21G o 22G.
  - Se puede citrar la aguja para evitar la formación de agregados y microcoágulos en el momento de la extracción.
  - El plasma citrato se obtiene después de centrifugar la muestra a 2.000 rpm durante 10 minutos y traspasarlo a otro tubo seco.
  - Refrigerar a 4°C o congelar para conservar la muestra.

4. SUERO

- Serología
- Bioquímica*
- Alergias
- Inmunología Clínica
- Hormonas

  - La muestra debe ser extraída preferentemente de la vena yugular y sin aplicar una presión negativa excesiva para evitar la hemólisis.
  - Se recomienda el uso de agujas de 21G o 22G para la extracción.
  - Prever un volumen mínimo para el número de análisis que se tengan que realizar. Consultar los volúmenes mínimos en el listado de analíticas.
  - Dejar reposar 15 minutos a temperatura ambiente para facilitar la formación del coágulo.
  - El suero se obtiene después de centrifugar la muestra a 2.000 rpm durante 10 minutos.
  - El gel separador mantendrá aislado el suero del componente celular no siendo necesario traspasarlo a otro tubo seco. Refrigerar a 4°C.

*Los tubos de gel separador permiten determinar la glucosa a condición de que hayan sido centrifugados después de la toma de la muestra.

5. HECES

- Parásitos
- Digestión
- Sangre oculta
- Coprocultivo

  - Las muestras deben ser frescas.
  - Para el estudio de parásitos es recomendable la recolección de 2 o 3 deposiciones a lo largo del día.
  - Para microbiología los contenedores tienen que ser estériles y se deben recoger las heces directamente del ano del animal.
  - Refrigerar a 4°C.

6. ORINA

- Serología
- Bioquímica*
- Alergias
- Inmunología Clínica
- Hormonas

  - Si se prevé que hará falta realizar un cultivo, la cistocentesis es la mejor manera de tomar la muestra.
  - Alternativamente, si no es posible, hay que extraer la orina mediante un sondaje.
  - Si no es posible realizar ninguna de las extracciones anteriores, limpiar el área de micción y los genitales y recoger la orina directamente a mitad de micción. Con este método se pueden realizar las bioquímicas y el examen del sedimento, pero no es recomendable para cultivo.
  - Una vez tapado invertir el contenedor para asegurarnos de que no pierde contenido.
  - Refrigerar la muestra a 4°C y avisar al Laboratorio lo antes posible ya que la refrigeración puede facilitar la formación de cristales.

7. MUESTRAS CONGELADAS

- Plasma EDTA (congelado): ACTH/Amonio
- Plasma Citrato (congelado): Antitrombina III/Factores de Coagulación/PDF
- Suero (congelado): Aldosterona/Calcio iónico/Colecalciferol 1,25-2-OH/ Gastrina/Taurina

  - Las muestras para este tipo de pruebas se deben manipular rápidamente (no dejar reposar la muestra).
  - Extraer la muestra de sangre (seguir las indicaciones de los apartados 2, 3 y 4), centrifugarla a 2.000 rpm durante 10 minutos y separar el plasma/suero traspasándolo a otro tubo seco y congelar.
  - Avisar al Laboratorio de que se envía una muestra congelada y enviarla en un contenedor de hielo.

El Laboratorio suministra contenedores con coste, bajo demanda y abonará el importe a su retorno.

8. MICROBIOLOGÍA

- Contenedor estéril
- Hisopo estéril con medio de transporte Amies

  - Usar guantes desinfectados con alcohol para la extracción de la muestra.
  - En la toma para muestras no superficiales por punción es preciso usar una aguja de 21G o 22G y una jeringa estériles.
  - Desinfectar la superficie del cuerpo con alcohol de 70° (tomar 7 ml alcohol de 95° y 3 ml de suero fisiológico con una jeringa de 10 ml).
  - Identificar la zona más representativa de la lesión y tomar las muestras en condiciones de máxima asepsia, evitando el contacto con la piel o zonas no estériles.
  - En el caso de exudados limpiar la zona externa y coger muestra de la parte más profunda.
  - En las lesiones purulentas intentar extraer la muestra con el mínimo de pus posible.
  - Refrigerar a 4°C.
  - Realizar una extensión en un portaobjetos para facilitar el estudio de los microorganismos presentes en el momento de la extracción. Esto permitirá afinar más el diagnóstico.
  - Para las muestras de sangre es preciso solicitar un medio de transporte específico al Laboratorio.
  - Cuando se remiten órganos/líquidos biológicos para el cultivo, la extracción debe ser aséptica y las muestras se tienen que enviar en contenedores estériles.
  - Para cultivos micológicos realizar un raspado alrededor de las lesiones con una hoja de bisturí.
  - Recoger muestra de más de una lesión procurando que no sangre ya que inhibe el crecimiento de los dermatofitos.
  - Alternativamente arrancar los pelos con pinzas.
  - Para cultivos trabajar con material estéril.
  - No es necesario refrigerar la muestra.

9. OBSERVACIÓN DE HONGOS

- Contenedor
- Entre dos portaobjetos sellados

  - Realizar un raspado alrededor de las lesiones con una hoja de bisturí.
  - Recoger muestra de más de una lesión. Alternativamente arrancar los pelos con pinzas.
  - No es necesario refrigerar la muestra.
  - Las muestras con aceite y otros agentes no son válidas para la valoración de la fluorescencia. En caso necesario se puede usar suero fisiológico para mojar la piel y los pelos evitando que la muestra se esparza.
  - Para evaluar micoparasitológicos y tricogramas es necesario extraer la muestra por raspado y arrancado de pelos.
  - La manera de enviar estas muestras es la misma que para hongos y parásitos dérmicos.

10. OBSERVACIÓN PARÁSITOS INTRADÉRMICOS

- Entre dos portaobjetos sellados
- Cinta adhesiva sobre portaobjetos

  - Tomar las muestras de diferentes lesiones.
  - Raspar alrededor de las lesiones y en profundidad aunque se produzcan pequeñas hemorragias.
  - Alternativamente, si hay sospecha de parásitos superficiales se pueden arrancar pelos y/o realizar un Scotch Tape Test (cinta adhesiva).
  - Enviar les muestras entre dos porta-objetos sellados con esparadrapo o cinta adhesiva.
  - Para evaluar micoparasitológicos y tricogramas leer el punto 9.

11. MOQUILLO EN LÍQUIDO CONJUNTIVAL

- Tomar suficiente muestra de exudado conjuntival con un hisopo limpio e introducirlo en un tubo EDTA.
- A continuación añadir suero fisiológico en volumen justo para cubrir el algodón del hisopo.
- Refrigerar a 4ºC.

12. BIOPSIAS

- Preparar las muestras lo antes posible (preferentemente durante los primeros 30 min después de la extracción).
- El Laboratorio suministra contenedores de plástico, de boca ancha con tapón de rosca, de cierre hermético de dos medidas (90ml y 500ml de capacidad). Los de 90ml se sirven con formol al 10%.
- Depositar dentro las muestras.
- En caso de tener que preparar formol al 10% tomar 1 vol. de formaldehido 35-40% + 9 vol. de agua corriente. El volumen de formol debería ser idealmente 10 veces el volumen de la muestra (como mínimo 3) y debe cubrirla completamente.
- Si la muestra es grande realizar un corte profundo para mejorar la penetración del formol. Las muestras que flotan tienen que cubrirse con una gasa gruesa.
- En casos de muestras especiales (muy grandes, endoscópicas, dermatológicas, de necropsias…) consultar las indicaciones para el envío en www.uranovet.com,
- Identificar los contenedores con el nombre del paciente.
- En caso de múltiples muestras identificarlas también tanto en el contenedor como en la hoja de petición.
- Cumplimentar la hoja de petición con la máxima información relevante:

Nombre del propietario	**Nombre y datos del paciente**
Historial clínico	**Tejido remitido**

El Laboratorio suministra contenedores Bio Safe bajo demanda y con coste.

13. CITOLOGÍA

- Realizar las extensiones inmediatamente después de la toma de muestras y dejar secar al aire.
- Si hay muestra sobrante (líquidos, médula ósea…) introducirla en un tubo con EDTA para evitar la coagulación.
- Si la citología es cutánea realizar improntas de la piel lesionada directamente sobre unos portaobjetos.
- No es necesario fijar la muestra pero si se quiere, sumergir el portaobjetos en metanol (primera solución del kit de tinción Diff-Quick) durante 10 segundos.
- Si se sospecha de contenido graso no fijar la muestra.
- No es necesario teñir las extensiones.
- Cumplimentar la hoja de petición con el máximo de información relevante posible.

Pueden ampliar la información en www.uranovet.com (información técnica: Guía para la toma de muestras de Anatomía Patológica).

14. ALERGIAS

- El diagnóstico de las alergias es complejo porque las respuestas de los animales afectados no son homogéneas.
- Las técnicas serológicas y las pruebas cutáneas sólo se pueden aplicar con garantías en procesos alérgicos de origen ambiental y, en pocos casos, en los derivados de una intolerancia alimentaria.
- Realizar una anamnesis precisa. El historial clínico es de vital importancia para el correcto diagnóstico de estos procesos.
- Antes de enviar cualquier muestra al Laboratorio hacer un tratamiento anti pulgas para ver si los síntomas remiten.
- Tomar 3 ml de sangre según el procedimiento del apartado 4.
- Cumplimentar la hoja de petición de análisis lo más detallada posible.

15. BIOLOGÍA MOLECULAR

- Papel de filtro FTA Card: suministro bajo demanda y con coste.
- Alternativa, tubos EDTA

- Las pruebas de amplificación del material genético son técnicas muy sensibles, pero delicadas.
- Si no se toman ciertas precauciones se pueden producir tanto falsos positivos como falsos negativos.
- Las muestras sobre las que se hace la amplificación están detalladas al lado del análisis en el apartado de BIOLOGÍA MOLECULAR.
- Para un preciso uso de estas técnicas hace falta seguir las siguientes instrucciones:
  - Extraer las muestras lo más asépticamente posible.
  - Las muestras líquidas (sangre entera y líquidos corporales) es preciso recogerlas de forma rápida en un tubo de EDTA o empaparlas en papel de filtro FTA card para su conservación (depositarlas antes de transcurrir 30 minutos de su extracción para evitar que se degraden y ya no sean válidas).
  - No usar tubos con heparina para conservar la muestra (la heparina inhibe la reacción de la polimerasa).
  - Las muestras de tejidos deben depositarse en contenedores estériles con suero fisiológico SIN FORMOL. Se pueden hacer improntas de tejidos sobre papel de filtro FTA card.
  - Conservar las muestras a 4°C exceptuando los pelos que se pueden dejar a temperatura ambiente.
  - Si se utilizan papeles de filtro FTA card deben conservarse a temperatura ambiente, dentro de una bolsa con el desecante.
  - Cumplimentar la hoja de petición con el máximo de información posible.

CON CARÁCTER GENERAL

- Depositar las muestras en los tubos correctos.
- Respetar los volúmenes necesarios en los tubos con anticoagulante.
- Trabajar en condiciones asépticas en Microbiología.
- Dejar reposar las muestras a temperatura ambiente 15 minutos y refrigerar a 4°C.
- **NUNCA CONGELAR** las muestras de sangre entera.
- Identificar todas las muestras y completar la hoja de petición.

El Laboratorio conserva congelados a -20°C todos los sueros durante un año.
Para cualquier tipo de análisis fuera de catálogo contactar con el Laboratorio.