

**ELABORACIÓN DE LOS MANUALES DE PROCEDIMIENTOS
HEMATOLÓGICOS, SEROLÓGICOS, CITOLÓGICOS, PARASITOLÓGICOS Y
UROANÁLISIS, COMO PARTE INTEGRAL DEL PROCESO DE CONTROL DE
CALIDAD INTERNO DEL LABORATORIO DE LA CLINICA VETERINARIA
“CARLOS MARTÍNEZ HOYOS” DE LA UNIVERSIDAD DE NARIÑO**

ALEJANDRO MARCELO RODRIGUEZ ERASO

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
SAN JUAN DE PASTO
2009**

**ELABORACIÓN DE LOS MANUALES DE PROCEDIMIENTOS
HEMATOLÓGICOS, SEROLÓGICOS, CITOLÓGICOS, PARASITOLÓGICOS Y
UROANÁLISIS, COMO PARTE INTEGRAL DEL PROCESO DE CONTROL DE
CALIDAD INTERNO DEL LABORATORIO DE LA CLÍNICA VETERINARIA
“CARLOS MARTÍNEZ HOYOS” DE LA UNIVERSIDAD DE NARIÑO**

ALEJANDRO MARCELO RODRIGUEZ ERASO

**Informe final de pasantía presentado como requisito parcial para optar al
título de Médico Veterinario**

**Asesora:
M.V. Esp. KATIA BENAVIDES ROMO**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
SAN JUAN DE PASTO
2009**

NOTA DE RESPONSABILIDAD

“Las ideas y conclusiones aportadas en el trabajo de grado, son responsabilidad del autor”

Artículo 1 del acuerdo N° 324 de octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de Aceptación

MVZ. Esp. Patricia López Guarnizo
Jurado Delegado

Dra. Nancy Galindes Santander
Jurado Evaluador

MV.Esp. Katia Benavides Romo
Asesora

San Juan de Pasto, Noviembre de 2009.

DEDICATORIA

A María Violeta Rodríguez Salas.
A Hortensia Eraso López.
Principio y fin de todo.

AGRADECIMIENTOS

A la familia Rodríguez Eraso, a la familia Salas Obando, al Colectivo Nacional Sindical Clasista Guillermo Marín - Nariño y al movimiento por la Constituyente Popular y Democrática MCP.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN.....	22
1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA.....	23
2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	25
3. OBJETIVOS.....	26
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	26
4. MARCO TEÓRICO.....	27
4.1 CONFORMACIÓN DEL MANUAL.....	27
5. DISEÑO METODOLOGICO.....	29
5.1 LOCALIZACIÓN.....	29
5.2 INSTALACIONES Y EQUIPOS.....	29
5.3 PROCEDIMIENTO.....	29
5.3.1 Diagnóstico.....	29
5.3.2 Revisión Bibliografica.....	29
5.3.3 Estructuración de los manuales.....	29
5.3.4 Socialización.....	29
6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	30
6.1. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS EN PARASITOLOGIA.....	30
6.1.1 Técnica de MAC master o de Flotación.....	34
6.1.1.1 Principio.....	34
6.1.1.2 Equipos y materiales:.....	35
6.1.1.3 Reactivos.....	35

6.1.1.4. Material Biológico:.....	36
6.1.1.5 Procedimiento:	36
6.1.1.5.1 Frotis directo. (Solo en caninos y felinos.....	36
6.1.1.5.1.1 Cálculo de resultados: determinación cualitativa	36
6.1.1.5.1.2 Valores de referencia:	36
6.1.1.5.2 Método de flotación:.....	36
6.1.1.5.2.1 Cálculo de resultados:.....	37
6.1.1.5.2.2 Valores de referencia:	37
6.1.1.5.3 Método de flotación con cámara de Mac Master:	37
6.1.1.5.3.1 Cálculo de resultados:.....	37
6.1.1.5.3.2 Valores de referencia.	37
6.1.2 DENNIS	38
6.1.2.1 Equipos y materiales:.....	38
6.1.2.2 Reactivos:	38
6.1.2.3. Material Biológico:.....	38
6.1.2.4 Procedimiento:	38
6.1.2.5. Calculo de resultados.....	39
6.1.2.6. Valores de referencia.	39
6.1.3 BAERMAN	39
6.1.3.1 Equipos y materiales:.....	39
6.1.3.2 Reactivos:	40
6.1.3.3 Material biológico:	40
6.1.3.4. Procedimiento:	40
6.1.3.5. Cálculo de resultados:.....	41

6.1.3.6 Valores de referencia:	41
6.1.4 Formulario de impresos	42
6.1.5 Bibliografía:	42
6.1.5 Bibliografía:	43
6.2. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS EN HEMATOLOGIA	44
6.2.1 Hemograma-hemoglobina-hematocrito.....	48
6.2.2 Recuento leucocitario:.....	48
6.2.1.1 Equipos:.....	48
6.2.1.2 Materiales y reactivos requeridos:	49
6.2.1.2.1 Pipeta de glóbulos blancos (De Thoma) o pipeta automática (de 0 a 100 mL).....	49
6.2.1.2.2 Diluyente de glóbulos blancos: Solución de Turk al 1%.....	49
6.2.1.2.3 Contador manual (Sólo si fuera necesario).....	49
6.2.1.2.4 Papel filtro.	49
6.2.1.3 Procedimiento:	49
6.2.1.4 Resultados:	50
6.2.1.5 Valores de referencia: Ver anexo A y B.	51
6.2.2 RECUENTO DE GLÓBULOS ROJOS.....	51
6.2.2.1 Equipos.....	51
6.2.2.2 Materiales y reactivos requeridos:	51
6.2.2.3 Procedimiento:	51
6.2.2.4 Resultados:	53
6.2.2.5 Valores de referencia.....	53
6.2.3 DETERMINACIÓN DEL VOLUMEN GLOBULAR (Hematocrito)	53

6.2.3.1 Método de microhematocrito:.....	53
6.2.4 Realización y tinción del frotis sanguíneo..	56
6.2.4.1 Método de los dos portaobjetos:	56
6.2.4.1.1 Materiales:	56
6.2.4.1.2 Fundamento:.....	56
6.2.4.1.3 Procedimiento:.....	57
6.2.4.2 Coloraciones usadas	58
6.2.4.2.1 Tinción con colorante de wright:	58
6.2.4.2.2 Materiales	58
6.2.4.2.3 Procedimiento:.....	58
6.2.5 Fórmula leucocitaria.....	59
6.2.5.1 Procedimiento:	60
6.2.5.2 Valores de referencia ver anexo A y B.....	60
6.2.6 Anexo A	60
6.2.8 Formulario de impresos	63
6.2.9 Bibliografía	64
6.3. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS EN QUIMICA SANGUINEA	65
6.3.1 Determinación cuantitativa de creatinina	69
6.3.2 Determinación cuantitativa de albúmina	74
6.3.3 Urea:	78
6.3.4 Determinación cuantitativa de alanina aminotransferasa GPT (ALT)	82
6.3.5 Determinación cuantitativa de aspartato aminotransferasa GOT (AST)	87
6.3.6 Determinación cuantitativa de fosfatasa alcalina (FAL)	92
6.3.7 Determinación cuantitativa de α -amilasa (AMS)	97

6.3.8 Determinación cuantitativa de hemoglobina:	102
6.3.9 Determinación cuantitativa de glucosa:	106
6.3.10 Determinación cuantitativa de colesterol:.....	111
6.3.11 Determinación cuantitativa de triglicéridos.....	115
6.3.12 Determinación cuantitativa de proteínas totales:	120
6.3.13 Determinación cuantitativa de ácido úrico.....	124
6.3.14 Determinación cuantitativa de calcio:.....	129
6.3.15 Determinación cuantitativa de magnesio:	134
6.3.16 Determinación cuantitativa de fósforo:	139
6.3.17 Formulario de Impresos.....	144
6.4.MANUAL DE PROCEDIMIENTOS EN UROLOGIA.....	146
6.4.1 Tiras reactivas de orina multistix 10 SG.....	150
6.4.1.1 Principio	150
6.4.1.2 Equipos y materiales:.....	150
6.4.1.3 Reactivos:	151
6.4.1.4. Material Biológico:.....	151
6.4.1.5 Procedimiento:	151
6.4.1.5.1 Exámen físico de la orina.....	151
6.4.1.5.1.1 Cálculo de resultados: determinación cualitativa	151
6.4.1.5.1.2 Valores de referencia:	151
6.4.1.5.2 Examen químico de la orina.....	151
6.4.1.5.3 Sedimento urinario.	153
6.4.1.5.3.1 Procedimiento:	153
6.4.1.5.3.2 Cálculo de resultados: determinación cualitativa	153

6.4.1.5.3.3 Valores de referencia	153
6.4.2 Formulario de Impresos	154
6.5. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS EN CITOLOGIA.....	156
6.5.1 Citología.....	160
6.5.1.1 Principio	160
6.5.1.2 Equipos y materiales:.....	160
6.5.1.3 Reactivos:	160
6.5.1.4 Material biológico:	160
6.5.1.5 Procedimiento:	160
6.5.1.6 Cálculo de resultados.....	161
6.5.2 Citología de Líquidos..	161
6.5.2.1 Principio.	161
6.5.2.2 Equipos y materiales.....	162
6.5.2.3 Material biológico:	162
6.5.2.4 Procedimiento:	162
6.5.2.4.1 Examen físico del líquido	162
6.5.2.4.2 Cálculo de resultados: determinación cualitativa	162
6.5.2.4.3 Examen químico del líquido:	162
6.5.2.4.4 Valores de referencia:	163
6.5.3 Formulario de Impresos	164
6.5.4 Bibliografía:	164
6.5.4 Bibliografía:	164
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	165

7.1 CONCLUSIONES	168
7.2 RECOMENDACIONES	168
BIBLIOGRAFIA	168
NETGRAFÍA	170

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Montaje para la técnica de Baerman	41
Figura 2. Lectura Celular Blancas, Cámara de Neubauer	50
Figura 3. Lectura células rojas cámara de neubauer	53
Figura 4. hematocrito disposición celular	55
Figura 5. Lectura hematocrito	56
Figura 6. frotis sanguíneo	57

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Reactivos Creatinina	70
Tabla 2. Reactivos Albumina	74
Tabla 3. Reactivos Úrea	79
Tabla 4. Reactivos Alt	83
Tabla 5. Reactivos Ast	88
Tabla 6. Reactivos Fa	93
Tabla 7. Reactivos Amilasa	98
Tabla 8. Reactivos Hemoglobina	102
Tabla 9. Reactivos Glucosa	107
Tabla 10. Reactivos Colesterol:	111
Tabla 11. Reactivos Trigliceridos	116
Tabla 12. Reactivos Proteinas Totales	121
Tabla 13. Reactivos Ácido Úrico	125
Tabla 14. Reactivos Calcio	130
Tabla 15. Reactivos Magnesio	135
Tabla 16. Reactivos Fosforo	140

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Normas generales de bioseguridad en el laboratorio.	172

GLOSARIO

Anticoagulante: es una sustancia endógena o exógena que interfiere o inhibe la coagulación de la sangre, creando un estado pro hemorrágico.

Caja o disco de Pétri: en bacteriología, cápsula formada por dos discos de cristal que pueden adaptarse entre sí. En el disco que forma el fondo de la caja se deposita caldo gelosado y el conjunto puede ser fácilmente esterilizado, sembrado y colocado en la estufa. La caja de Pétri, se utiliza generalmente para la separación de los microbios cuyas colonias se desarrollan aisladamente y pueden ser estudiadas con facilidad

Cámara Mc Master: para conteo de huevos está particularmente diseñada para la estimación cuantitativa del número de huevos de parásitos por gramo de heces en cabras, ovejas y otros pequeños animales.

Campo del microscopio: se denomina campo del microscopio al círculo visible que se observa a través del microscopio. También podemos definirlo como la porción del plano visible observado a través del microscopio. Si el aumento es mayor, el campo disminuye, lo cual quiere decir que el campo es inversamente proporcional al aumento del microscopio

Citometría hemática: proviene de *bitos*: célula, *metros* : medida y *haema*: sangre.

CmHb: concentración media de hemoglobina corpuscular.

Colorimetría: es una técnica instrumental que tiene por objeto determinar la absorción de luz visible por una muestra, que puede ser una sustancia pura o bien una mezcla o disolución. Para ello se utiliza un instrumento constituido por los siguientes elementos:

Fuente de radiación (luz blanca) Sistema dispersivo (rendijas de entrada y salida, y red de difracción) Detector (fototubo que transforma la señal luminosa en una señal eléctrica)

Sistema de medida de la absorción, una vez amplificada (convertidor analógico o digital).

CV-VGM: coeficiente de variación del volumen globular medio.

El límite de detección: (LDD) se define habitualmente como la cantidad o concentración mínima de sustancia que puede ser detectada *con fiabilidad* por un método analítico determinado. Intuitivamente, el LDD sería la concentración mínima obtenida a partir de la medida de una muestra (que contiene el analito)

que seríamos capaces de discriminar de la concentración obtenida a partir de la medida de un blanco, es decir, de una muestra sin analito presente. El primer problema aparece en la palabra fiabilidad, puesto que ésta implica la introducción de la estadística en la propia definición de LDD y en su cálculo posterior.

Espectrofotometría: es el método de análisis óptico más usado en las investigaciones químicas y biológicas. El espectrofotómetro es un instrumento que permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto, y una que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia.

Estandarizar: "tipificar (ajustar a un tipo o norma), Tipificar: "Ajustar varias cosas semejantes a un tipo o norma común.

Glomérulo: es la unidad anatómica funcional del riñón donde radica la función de aclaramiento o filtración del plasma sanguíneo.

Hb: hemoglobina.

HCM: hemoglobina corpuscular media.

Hematología: (de gr. hema=sangre, logo=estudio hematología=estudio de la sangre αἷμα, -ατος-, "sangre" y -λογία, "estudio") La hematología es la rama de la ciencia médica que se encarga del estudio de los elementos formes de la sangre y sus precursores, así como de los trastornos estructurales y bioquímicos de estos elementos, que puedan conducir a una enfermedad.

Hemograma: el hemograma completo (por su sigla en inglés es CBC) es la prueba de laboratorio en la se van a cuantificar y evaluar diferentes grupos celulares, los glóbulos rojos (eritrocitos), los glóbulos blancos (leucocitos), las plaquetas, el contenido de hemoglobina, y otros parámetros relacionados con su cantidad, forma y contenido.

Hemólisis: es el fenómeno de la desintegración de los eritrocitos (glóbulos rojos o hematíes).

Hospedero: organismo que alberga a un parásito.

Nematodos: nematodos o nematodes; antiguamente nematelmintos, Nematodo, del griego *nema*, "hilo", *eidés* u *oidos*, "con aspecto de" son un filo de vermes pseudocelomados con más de 25.000 especies registradas y un número estimado mucho mayor, el cuarto del reino animal por lo que se refiere al número de especies. Se conocen como gusanos redondos, debido a la forma de su cuerpo en un corte transversal.

Ooquiste: es la fase esporulada de ciertos protistas, incluyendo el *Toxoplasma* y *Cryptosporidium*. Este es un estado que puede sobrevivir por largos períodos de tiempo fuera del hospedador por su alta resistencia a factores del medio ambiente.

Parasitología: es una rama de la biología que estudia el fenómeno del parasitismo. Es decir, estudia a los organismos vivos parásitos eucariotas como son los protozoos, helmintos (trematodos, cestodos, nematodos) y artrópodos. El resto de los organismos parásitos (virus, procariotas y hongos) tradicionalmente se consideran una materia propia de la microbiología.

Parcial de orina: describe un perfil o grupo de pruebas tamiz con capacidad para detectar enfermedad renal, del tracto urinario o sistémico. Desde el punto de vista de los procedimientos médicos, la orina se ha descrito como una biopsia líquida, obtenida de forma indolora, y para muchos, la mejor herramienta de diagnóstico no invasiva de las que dispone el médico.

Química sanguínea: es un grupo de exámenes de sangre que suministran información acerca del metabolismo del cuerpo. El examen se denomina comúnmente análisis metabólico básico

Refractometría: al método de calcular el índice de refracción (una propiedad física fundamental de cualquier sustancia) de una muestra para, por ejemplo, conocer su composición, densidad o pureza. Los refractómetros son los instrumentos empleados para determinar este índice de refracción. A pesar de que los refractómetros son más eficaces para medir líquidos, también se emplean para medir sólidos y gases, como vidrios o gemas.

Solución Sobresaturada: corresponde a aquella que contiene disuelto una cantidad de gramos de soluto mayor a la que corresponde para una *solución saturada*. La solución saturada es aquella en la cual sólo se distingue una fase y no sobra cantidad sólida de soluto.

VGM: volumen globular medio.

RESUMEN

Una de las herramientas de mayor utilidad para el Diagnóstico Médico Veterinario actual, es el manejo de pruebas complementarias de carácter científico como lo son los exámenes de Laboratorio pertinentes, exactos y confiables. Un manual de procedimiento permite homogenizar, ordenar y tener un conocimiento preciso de los principios de las pruebas que se adelantan en el laboratorio.

El proyecto se realizó en el laboratorio clínico de diagnóstico de la Clínica Veterinaria de la Universidad de Nariño; en donde se sistematizaron y ordenaron los procedimientos que se realizan en cada una de las técnicas de diagnóstico, también se especifican los principios que rigen cada una de las técnicas, para al final obtener como resultado los manuales de procedimientos, así, este trabajo realizara los manuales en las pruebas Hematológicas, Serológicas, Citológicas, Parasitológicas y Uroanálisis, como parte integral del proceso de control de calidad interno del laboratorio de la clínica veterinaria “Carlos Martínez hoyos” de la universidad de Nariño. Para esto se agotaron cuatro etapas: diagnóstico, revisión bibliográfica, estructuración de los manuales y socialización.

Estos manuales de procedimiento permitirán obtener información precisa sobre la variabilidad y exactitud de las pruebas realizadas, el principio científico que les guía, los requerimientos básicos para el montaje de las muestras.

Una de las herramientas de mayor utilidad para el Diagnóstico Médico Veterinario actual, es el manejo de pruebas complementarias de carácter científico como lo son los exámenes de Laboratorio pertinentes, exactos y confiables. Un manual de procedimiento permite homogenizar, ordenar y tener un conocimiento preciso de los principios de las pruebas que se adelantan en el laboratorio, así, este trabajo realizara los manuales de procedimientos en las pruebas Hematológicas, Serológicas, Citológicas, Parasitológicas y Uroanálisis, como parte integral del proceso de control de calidad interno del laboratorio de la clínica veterinaria “Carlos Martínez hoyos” de la universidad de Nariño.

ABSTRACT

One of the tools of more utility for the current Veterinary Medical Diagnosis, is the handling of complementary tests of scientific character as they are it the pertinent, exact and reliable exams of Laboratory. A procedure manual allows to homogenize, to order and to have a precise knowledge of the principles of the tests that you/they are ahead in the laboratory.

The project one carries out in the clinical laboratory of I diagnose of the Veterinary Clinic of the University of Nariño; where they were systematized and they ordered the procedures that are carried out in each one of the techniques of I diagnose, the principles are also specified that govern each one of the techniques, it stops at the end to obtain the manuals of procedures as a result, this way, this work carried out the manuals in the tests Hematológicas, Serológicas, Citológicos, Parasitológicos and Uroanálisis, like integral part of the process of internal control of quality of the laboratory of the veterinary clinic "Carlos Martínez holes" of the university of Nariño. For this four stages were drained: I diagnose, bibliographical revision, structuring of the manuals and socialization.

These procedure manuals will allow to obtain precise information about the variability and accuracy of the carried out tests, the scientific principle that guides them, the basic requirements for the assembly of the samples.

One of the tools of more utility for the current Veterinary Medical Diagnosis, is the handling of complementary tests of scientific character as they are it the pertinent, exact and reliable exams of Laboratory. A procedure manual allows to homogenize, to order and to have this way a precise knowledge of the principles of the tests that you/they are ahead in the laboratory, this work carried out the manuals of procedures in the tests Hematológicas, Serológicas, Citológicos, Parasitológicos and Uroanálisis, like integral part of the process of internal control of quality of the laboratory of the veterinary clinic "Carlos Martínez holes" of the university of Nariño.

INTRODUCCIÓN

Una de las herramientas de mayor utilidad para el Diagnóstico Médico Veterinario actual es el manejo de pruebas complementarias de carácter científico como lo son los exámenes de Laboratorio pertinentes, exactos y confiables. Estos permiten acercarse de una manera veraz al diagnóstico, este tipo de ayudas posibilitan resultados oportunos en tiempo, costo y calidad, así mismo, en muchos casos son determinantes para la elección de tratamientos, y pueden ser la medida exacta entre la vida y la muerte de los pacientes.

Ganar esa confiabilidad debe ser tarea constante de las instituciones que tienen a su cargo dichos servicios, y dicha confianza debe ser el resultado de la aplicación de un estudio sistemático e ininterrumpido que termine con la certificación correspondiente de calidad del servicio prestado. Un manual de procedimiento permite homogenizar, ordenar y tener un conocimiento preciso de los principios de las pruebas que se adelantan en el laboratorio, así como, también, es el primer paso para estandarizar la prueba a desarrollar y con ello ganar en calidad. En la actualidad aún no se ha realizado un manual de procedimientos que permita al personal del laboratorio tener una guía mínima de métodos en determinada prueba que garanticen su calidad y a los estudiantes un material académico que puedan confrontar con la práctica diaria en el laboratorio. Adicionalmente este tipo de guías garantizan el cumplimiento de los parámetros mínimos de bioseguridad en el manejo de biológicos.

La confiabilidad de una prueba debe estar sometida a un monitoreo, a un método, que nos permita saber la exactitud de esta, los manuales de procedimientos se definirían como el ajuste de un método analítico a determinadas normas y formas que garanticen la calidad y la veracidad de este método; con esto lo que se pretende es no solo garantizar la calidad si no también la exactitud de la prueba y confiabilidad del laboratorio frente a otros laboratorios y frente al destinatario final, el paciente evaluado.

Uno de los problemas más comunes que se presenta en el laboratorio es el “error humano”, saberlo reducir a su mínima expresión, siguiendo un protocolo sistemático y científico, desde la toma de la muestra (fase pre-analítica), pasando por el procesamiento de la muestra (fase-analítica) y el análisis de sus resultados (fase post-analítica) permitirá al Laboratorio de la Clínica Veterinaria de la Universidad de Nariño, ofrecer un mejor servicio, de calidad y competitivo en el ámbito Médico Veterinario del Departamento de Nariño.

1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

El conjunto de pruebas que se realizan dentro de un laboratorio clínico son una herramienta imprescindible para un trabajo médico serio, sistemático y confiable; de ahí que se podría afirmar con toda tranquilidad que el médico Veterinario que no haga uso de estas herramientas tienda a ser relegado por una sociedad médica que avanza a pasos agigantados. Por otro lado, son los laboratorios quienes deben asegurar una confiabilidad para los profesionales del área generando calidad de diagnóstico en los servicios que presta.

En la actualidad el Laboratorio de la Clínica Veterinaria “CARLOS MARTÍNEZ HOYOS” de la universidad de Nariño no posee un manual de procedimientos Hematológicos, Serológicos, Citológicos, Parasitológicos y Uroanálisis que le permitan homogenizar los procedimientos propios de las muestras y elevar sus servicios en términos de calidad y competitividad frente a otros laboratorios. Con el manual ajustado a las necesidades técnicas de éste y en especial la Universidad se lograría un mejor posicionamiento como referente académico y práctico en esta área; logrando una mejor armonización con la red de laboratorios de diagnóstico veterinario.

La normatividad vigente relacionada con el registro y certificación de laboratorios de diagnóstico Veterinario ante el ICA, “Resolución 001599 de 2007”, dispone en sus considerandos:

- Que es necesario contar con una red de laboratorios de diagnóstico veterinario con criterios de desempeño armonizados para optimizar su funcionamiento.
- Los laboratorios veterinarios deben cumplir con las normas mínimas de calidad para poder aceptar como válidos los resultados analíticos que se emitan.
- Que con el fin de ejercer el control técnico de los resultados emitidos a los productores pecuarios, establecer la implantación de normas mínimas de calidad en los laboratorios que manipulan microorganismos patógenos y no patógenos o material genético derivado y minimizar los riesgos que puedan generarse de estos laboratorios a la salud animal, humana y el ambiente, es necesario establecer las normas a las cuales se debe sujetar toda persona natural o jurídica.

Los responsables del control de los laboratorios veterinarios (ICA, Dirección Municipal de Salud, dirección científica de laboratorio clínico veterinario UDENAR)

en los últimos tiempos han dispuesto una serie de requisitos con el fin de unificar políticas de calidad en el servicio y garantizar un uso pertinente y ajustado a las leyes ambientales en materia de residuos de laboratorio, con lo que un manual de procedimientos que contenga lineamientos básicos para este manejo contribuiría al cumplimiento de dichos requerimientos, así como, a la conservación del medio ambiente en los términos establecidos por las leyes.

Los manuales de procedimiento permitirán obtener información precisa sobre la variabilidad y exactitud de las pruebas realizadas, el principio científico que les guía, los requerimientos básicos para el montaje de las muestras.

Con el manual de procedimientos instalado es más fácil hacer comparaciones de las técnicas con laboratorios a nivel nacional e incluso internacional en esta área, hacer los ajustes necesarios, si es que los hay que hacerlos, con el consecuente reconocimiento y aporte a la unificación de criterios médicos en lo concerniente a esta materia.

Sin duda el manual de procedimientos contempla el correcto uso de las buenas prácticas de laboratorio que garantizan tanto a sus funcionarios como a los demás (compañeros de trabajo, estudiantes, público en general) un ambiente tranquilo y seguro con respecto al los riesgos inherentes de los laboratorios de diagnóstico.

2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

En el laboratorio de diagnóstico veterinario de la Clínica Carlos Martínez Hoyos de la Universidad de Nariño no existen manuales de procedimientos hematológicos, serológicos, citológicos, parasitológicos y de uroanálisis como parte esencial en el proceso de calidad interno.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Elaboración de los manuales de procedimientos hematológicos, serológicos, citológicos, parasitológicos y uroanálisis, como parte integral del proceso de control de calidad interno del laboratorio de la clínica veterinaria “Carlos Martínez hoyos” de la Universidad de Nariño.

4. MARCO TEÓRICO

Un manual de procedimientos es el documento que contiene la descripción de actividades que deben seguirse en la realización de las funciones de una unidad administrativa, o de dos ó más de ellas.

El manual incluye además los puestos o unidades administrativas que intervienen precisando su responsabilidad y participación.

En él se encuentra impreso y documentada la información mínima necesaria para la correcta aplicación de la técnica a implementarse, de tal manera que se facilita las labores de comprobación y evaluación. Sirve como elemento de consulta para los responsables de laboratorio y documento guía para cerciorarse de la oportunidad de la técnica montada.

Su utilidad radica en que nos permite conocer las labores que se realizan durante el montaje de una técnica o prueba dentro del laboratorio por lo que organiza sistemáticamente tanto las responsabilidades del personal a cargo como el manejo ordenado y técnico en términos de descripción del montaje de dicha prueba , de esta manera ayudaría en la inducción o capacitación de posible nuevo recursos humanos del área; también facilita labores de auditoría interna y externa y eleva la capacidad de funcionamiento de los profesionales que prestan el servicio.

4.1 CONFORMACIÓN DEL MANUAL.

4.1.1 Identificación.

- 4.1.1.1 Logotipo de la organización
- 4.1.1.2 Nombre oficial de la organización
- 4.1.1.3 Denominación y extensión. De corresponder a una unidad en particular debe anotarse el nombre de la misma
- 4.1.1.4 Lugar y fecha de elaboración
- 4.1.1.5 unidades responsables de su elaboración.

4.1.2 ÍNDICE O CONTENIDO

4.1.3 PRÓLOGO Y/O INTRODUCCIÓN

4.1.4 OBJETIVOS DE LOS PROCEDIMIENTOS.

4.1.5 AREAS DE APLICACIÓN Y/O ALCANCE DE LOS PROCEDIMIENTOS.

4.1.6 RESPONSABLES.

4.1.7 POLÍTICAS O NORMAS DE APLICACIÓN

4.1.8 CONCEPTOS

4.1.9 PROCEDIMIENTO.

4.1.10 FORMULARIO DE IMPRESOS
4.1.11 GLOSARIO DE TERMINOS
4.1.12 FUENTES DE INFORMACIÓN

5. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1 LOCALIZACIÓN

El proyecto se realizo en el Laboratorio de diagnostico de la clínica veterinaria “CARLOS MARTINES HOYOS” de la universidad de Nariño.

5.2 INSTALACIONES Y EQUIPOS

En donde se cuenta con los equipos y técnicas de apoyo de cada prueba diagnóstica, contemplados en los manuales de procedimiento para las pruebas hematológicas, Serológicas, Citológicas, Parasitológicas, Microbiológicas y Uroanálisis.

5.3 PROCEDIMIENTO

El presente proyecto se desarrollo en las siguientes etapas:

5.3.1 Diagnóstico. Este paso incluyo la evaluación de la situación de cada uno u de los protocolos y manuales de procedimiento, así como, la determinación de acuerdo a la necesidad de nuevos protocolos. Bajo la asesoría de la dirección científica del laboratorio y al margen de la normatividad requerida para la certificación

5.3.2 Revisión Bibliográfica. Consistió en la documentación de cada procedimiento de tal manera que los manuales contemplan no solo el principio de la prueba si no que están actualizados y son coherentes con el contexto del laboratorio.

5.3.3 Estructuración de los manuales. Es la conformación de todos los manuales de procedimientos de acuerdo al normatividad vigente y a las necesidades del laboratorio

5.3.4 Socialización. Una vez estructurados los manuales, la socialización pretende dejar en claro las actualizaciones, modificaciones y anexos de los procedimientos a todo el equipo de trabajo del laboratorio que garantice la efectividad de los mismos y la calidad del servicio.

6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

UNIVERSIDAD DE NARIÑO

6.1. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS EN PARASITOLOGIA

NOVIEMBRE DE 2009.

INTRODUCCIÓN

El laboratorio de la Clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos” de la Universidad de Nariño inicio labores en el año de 1995 ; desde entonces y hasta el momento ha desarrollado una serie de actualizaciones técnicas e implementación de nuevas pruebas y nuevos equipos que le permiten hoy brindar un servicio de calidad a la comunidad nariñense.

Es un laboratorio que se ubica según la clasificación de la organización mundial de la salud como de **GRUPO DE RIESGO 2** y según sus características de diseño, construcción como **LABORATORIO BASICO-NIVEL DE BIOSEGURIDAD 2**; con capacidad para montar pruebas Hematológicas, Parasitológicas, Serológicas, Citológicas, Microbiología y Uroanálisis

Su acción está orientada dentro de la misión visión de la universidad de Nariño de tal suerte que ofrece sus servicios a pacientes de nuestra misma clínica, remisiones de clínicas veterinarias de la ciudad de pasto, ganaderos de Nariño y parte del putumayo, ofrece también el servicio de asesoría veterinaria profesional a estudiantes del programa de medicina veterinaria de la Universidad cumpliendo así su función académica.

Este manual se estructura en la dirección de la clínica a cargo del Dr. Darío Cedeño Quevedo, la dirección científica del laboratorio de la Dra. Katia Benavides Romo y la investigación y formulación del manual del auxiliar de laboratorio Alejandro Rodríguez Eraso.

El presente manual integra los procedimientos básicos para el montaje de la prueba de parasitología, tomando como referencia la condiciones propias del laboratorio de la clínica veterinaria “Carlos Martínez Hoyos” de la Universidad de Nariño y contiene los procedimientos básicos para el apropiado montaje de el ensayo de diagnostico. Detalla en forma lógica, ordenada y sistemática las principales técnicas básicas del laboratorio de parasitología para las especies animales que se remiten a este laboratorio.

Su contenido es de fácil comprensión para el personal adscrito al área de laboratorio de la clínica veterinaria así como para estudiantes del programa de Medicina Veterinaria de la Universidad de Nariño.

El manual contiene los valores de referencia utilizados por el laboratorio y describe las técnicas para la identificación de huevos de parásitos en las diferentes especies; las técnicas descritas son: Mac Master o de flotación, Dennis o de sedimentación y Baerman.

OBJETIVOS

- 1.** Establecer los procedimientos básicos de las pruebas de Mac Master, Dennis y Baerman para la identificación de parásitos gastrointestinales, Hepáticos y Pulmonares en las diferentes especies veterinarias.
- 2.** Dotar al laboratorio de la Clínica Veterinaria de la Universidad de Nariño un elemento indispensable para el control de calidad, así como una guía de apoyo académico para los estudiantes del programa de la universidad de Nariño.
- 3.** Determinar las diferentes técnicas utilizadas en el montaje de los exámenes de parasitología.

6.1. PROCEDIMIENTO PARA PARASITOLOGIA.

a. AREAS DE APLICACION

La aplicación del manual de procedimientos en las técnicas Parasitológicas sirve para estandarizar los procedimientos dentro del laboratorio de la clínica veterinaria de la Universidad de Nariño, es además un referente para otros laboratorios de diagnóstico veterinario en la región y otros departamentos y para que sea de utilidad al personal técnico y profesional del laboratorio clínico.

Es útil como herramienta académica para estudiantes de pregrado, profesores del programa y demás profesionales interesados en el área de laboratorio clínico veterinario.

b. ALCANCE DE LOS PROCEDIMIENTOS

Los procedimientos pueden ser aplicados a las diferentes especies domesticas como lo son: caninos, felinos, ovinos, porcinos, bovinos, equinos y aves.

c. RESPONSABLES

1. El director de la clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos”.
2. El director científico del laboratorio de la Clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos”.
3. El personal técnico y profesional del laboratorio de la clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos”.

d. CONCEPTOS

Parasitología: es una rama de la biología que estudia el fenómeno del parasitismo. Es decir, estudia a los organismos vivos parásitos eucariotas como son los protozoos, helmintos (trematodos, cestodos, nematodos) y artrópodos. El resto de los organismos parásitos (virus, procariotas y hongos) tradicionalmente se consideran una materia propia de la microbiología.

Hospedero: Organismo que alberga a un parásito.

Cámara Mc Master: para conteo de huevos está particularmente diseñada para la estimación cuantitativa del número de huevos de parásitos por gramo de heces en cabras, ovejas y otros pequeños animales.

Solución Sobresaturada: corresponde a aquella que contiene disuelto una cantidad de gramos de soluto mayor a la que corresponde para una *solución saturada*. La solución saturada es aquella en la cual sólo se distingue una fase y no sobra cantidad sólida de soluto.

Nematodos: nematodos o nematodes; antiguamente nematelmintos, Nematodo, del griego *nema*, "hilo", *eidés* u *oidos*, "con aspecto de" son un filo de vermes pseudocelomados con más de 25.000 especies registradas y un número estimado mucho mayor, el cuarto del reino animal por lo que se refiere al número de especies. Se conocen como gusanos redondos, debido a la forma de su cuerpo en un corte transversal.

Protozoos: también llamados protozoarios, son organismos microscópicos, unicelulares eucarióticos; heterótrofos, fagótrofos, depredadores o detritívoros, a veces mixótrofos (parcialmente autótrofos);

Ooquiste: es la fase esporulada de ciertos protistas, incluyendo el *Toxoplasma* y *Cryptosporidium*. Este es un estado que puede sobrevivir por largos períodos de tiempo fuera del hospedador por su alta resistencia a factores del medio ambiente.

Trematodos: tremátodos (Trematoda) son una clase del filo de gusanos platelmintos que incluye especies parásitas de animales, algunas de las cuales infestan al hombre. Son conocidos comúnmente por duelas. La mayoría de los trematodos tienen ciclos de vida complejos con estadios que afectan a varias especies; en estado adulto son endoparásitos de vertebrados, incluido el ser humano, y en estado larvario los son de moluscos y, a veces, de un tercer hospedador.

Caja o disco de Pétri: en bacteriología, cápsula formada por dos discos de cristal que pueden adaptarse entre sí. En el disco que forma el fondo de la caja se deposita caldo gelosado y el conjunto puede ser fácilmente esterilizado, sembrado y colocado en la estufa. La caja de Pétri, se utiliza generalmente para la separación de los microbios cuyas colonias se desarrollan aisladamente y pueden ser estudiadas con facilidad.

e. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

6.1.1 Técnica de MAC master o de Flotación. La parasitología estudia los seres que viven momentánea y/o permanentemente, sobre o dentro de otros organismos vivientes, obteniendo de los mismos su subsistencia. Las enfermedades parasitarias son la interrelación entre el agente etiológico (parásito), el hospedero y el medio ambiente, en donde al romperse la relación de equilibrio se produce sintomatología y se origina la enfermedad.

6.1.1.1 Principio. La presente práctica consiste en la determinación de parásitos mediante técnicas de frotis directo y flotación. Consiste en dispersar una suspensión de material fecal en solución de mayor densidad que los huevos de parásitos, la diferencia en la gravedad específica hace que los huevos se eleven a

la superficie. Cuando los huevos permanecen demasiado tiempo en la solución de concentración, pueden deformarse.

Esta técnica es recomendada para la identificación de quistes de protozoarios y huevos de helmintos, ya que son capaces de flotar en pesos específicos de 1,000 a 1,200 ug.

6.1.1.2 Equipos y materiales:

- Microscopio.
- Centrifuga.
- Cámara de Mac Master.
- Laminas.
- Laminillas.
- Recipientes
- Tubos de ensayo.
- Gasa
- Coladores
- Cucharillas
- Cámara de Neubauer

6.1.1.3 Reactivos.

- Agua destilada
- Solución sobresaturada de azúcar.
- Preparación:
 - ✓ 450 g de azúcar.
 - ✓ 355 ml de agua destilada.
 - ✓ 6.7 ml de formol al 10%.
 - ✓ Calentar el agua destilada y paulatinamente agregar el azúcar hasta que la solución empiece la ebullición. Dejar reposar hasta que este a temperatura ambiente y adicionar el formol; guardar en un recipiente de color ambar.
- Solución sobresaturada de sal.
- Preparación.
 - ✓ 500 g de sal.
 - ✓ 400 ml de agua destilada.
 - ✓ Mesclar y guardar en un recipiente cerrado.

6.1.1.4. Material Biológico:

1. heces de perro
2. heces de gato
3. heces de aves
4. heces de cerdo
5. heces de bovino u ovino

6.1.1.5 Procedimiento:

6.1.1.5.1 Frotis directo. (Solo en caninos y felinos). Se emulsifica una pequeña cantidad de heces en agua destilada y se aplica una pequeña capa sobre el portaobjetos. Se coloca el cubreobjetos y se examina el frotis en el objetivo de menor aumento, investigando la presencia de huevos, quistes y larvas. Este método es valioso cuando se sospecha de la presencia de larvas de nematodos o protozoarios móviles.

6.1.1.5.1.1 Cálculo de resultados: determinación cualitativa

6.1.1.5.1.2 Valores de referencia:

- una cruz (+): leve infestación
- dos cruces (++) moderada infestación
- tres cruces (+++) alta infestación

6.1.1.5.2 Método de flotación:

- Se coloca en un recipiente 2g de materia fecal.
- Se adiciona 30 ml de solución sobresaturada de sal (pequeñas especies: perros y gatos) o azúcar (grandes especies: bovinos, ovinos, equinos) y se homogeniza.
- Se filtra sobre una gasa y un colador.
- Se vierte en un tubo de ensayo hasta que se forme un menisco en la parte superior del tubo.
- Se deja reposar por 10 minutos.
- Se coloca una laminilla por 10 minutos más.
- Se retira la laminilla del tubo y se la coloca sobre una lámina.

- Se observa en el microscopio a 10x y 40x.

6.1.1.5.2.1 Cálculo de resultados:

Nº de Huevos de PGI/OOQUISTES / g de materia fecal = nº DE Huevos /ooquistes contados en la lamina x 100.

NOTA: correlacionar con la clínica del paciente.

6.1.1.5.2.2 Valores de referencia:

- una cruz (+): leve infestación
- dos cruces (++) moderada infestación
- tres cruces (+++) alta infestación

6.1.1.5.3 Método de flotación con cámara de Mac Master:

- Se coloca en un recipiente 2g de materia fecal.
- Se adiciona 30 Ml de agua destilada y se homogeniza.
- Se filtra sobre una gasa
- Se vierte en un tubo de ensayo y se marca sobre el nivel.
- Se centrifuga por 5 minutos
- Se riega el sobrenadante hasta las $\frac{3}{4}$ partes.
- Se reconstituye hasta la marca con solución de Mac Máster y se agita
- Se deja reposar por 10 minutos
- Se toma una muestra con una pipeta y se monta en la cámara de Mac Máster
- Se lee en el microscopio a un aumento de 10x

6.1.1.5.3.1 Cálculo de resultados:

Nº de Huevos de PGI/OOQUISTESN / g de materia fecal = nº DE Huevos /ooquistes contados en la Camara de Mac Máster x 200.

NOTA: correlacionar con la clínica del paciente.

6.1.1.5.3.2 Valores de referencia.

- una cruz (+): leve infestación
- dos cruces (++) moderada infestación
- tres cruces (+++) alta infestación

6.1.2 DENNIS

Principio: Se utiliza soluciones jabonosas. Estas soluciones hacen sedimentar los huevos favoreciendo su visualización por que ayudan a desprender los huevos de las materias fecales. Esta técnica se utiliza para descubrir huevos que tienen alto peso específico, como son los huevos de trematodos.

6.1.2.1 Equipos y materiales:

- Recipientes
- Tubos de ensayo
- Microscopio
- Laminas
- laminillas
- Cucharillas

6.1.2.2 Reactivos:

- SOLUCION DE DENNIS.
 - Preparación:
 - ✓ Mesclar en un recipiente: 995 ml de agua destilada, 7 ml de solución jabonosa (fabuloso, producto comercial) y 7 gotas de alumbre al 1%.
- LUGOL DE GRAM

6.1.2.3. Material Biológico:

1. heces de bovino u ovino

6.1.2.4 Procedimiento:

- Se coloca en un recipiente 2g de materia fecal.
- Se adiciona 50 ml de solución de Dennis y se homogeniza.
- Se vierte en un tubo de ensayo hasta alcanzar las tres cuartas partes. Se deja reposar por 10 minutos.
- Se elimina el sobrenadante hasta dejar en el tubo una cuarta parte. Se adiciona solución de Dennis hasta alcanzar nuevamente las tres cuartas partes del tubo. Se deja reposar por otros diez minutos.
- Se hace un nuevo lavado eliminando el sobrenadante hasta dejar en el tubo una cuarta parte. Se adiciona solución de Dennis hasta alcanzar nuevamente las tres cuartas partes del tubo. Se deja reposar por otros diez minutos.

- Se elimina el sobrenadante hasta dejar en el tubo una pequeña cantidad de la muestra.
- Se adicionan dos o tres gotas de LUGOL DE GRAM.
- Se vierte la muestra sobre una caja de Petri.
- Se observa en el microscopio a 10x.

6.1.2.5. Calculo de resultados. Es una técnica cualitativa y determina la presencia o ausencia de parásitos hepáticos en la muestra procesada.

6.1.2.6. Valores de referencia. Con un solo huevo de parásitos hepáticos se considera positivo. En caso de ausencia de huevos de parásitos hepáticos, se recomienda realizar control en 15 días, teniendo en cuenta el ciclo del parásito. El reporte de ausencia de huevos, no es indicativo de un resultado negativo.

6.1.3 BAERMAN

PRINCIPIO: La técnica de Baerman se basa en la migración activa o movimiento de las larvas. Las heces son suspendidas en agua. Las larvas se mueven hacia el agua. Se hunden hacia el fondo, donde pueden ser colectadas para su identificación.

6.1.3.1 Equipos y materiales:

- | | |
|-----------------|------------------------|
| • Cucharillas | • Microscopio |
| • Gasa | • Láminas y laminillas |
| • Recipientes | • Tubo de ensayo |
| • Embudo | • Centrifuga |
| • Cronometro | |
| • Manguerita | |
| • Pipeta. | |
| • Banda de hule | |
| • Pinza. | |
| • Beaker | |
| • Soporte | |

6.1.3.2 Reactivos:

- Agua a 37°C
- Yodo

6.1.3.3 Material biológico:

- HECES BOVINAS U OVINAS

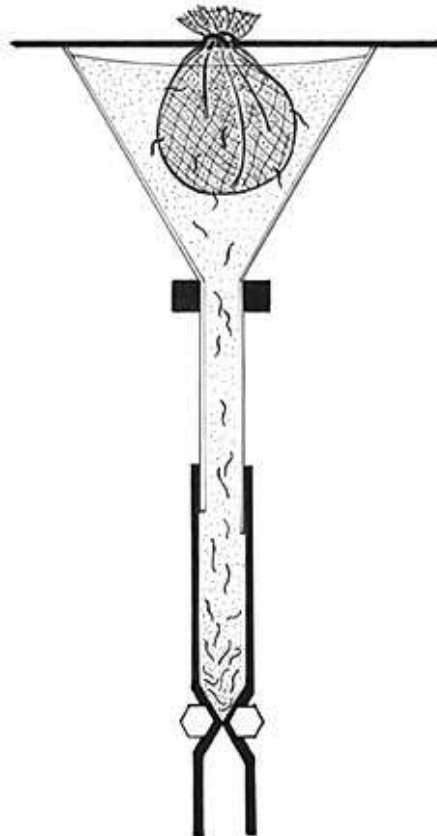
6.1.3.4. Procedimiento:

1. Colocar una doble capa de Gasas sobre una toalla de papel desechable o equivalente sobre la mesa de trabajo.
2. Usando una cuchara o espátula pesar o medir aproximadamente 5-10 gramos de material fecal.
3. Colocar el material fecal en el centro de la gasa.
4. Usando una banda de hule o tramo de hilo cerrar la bolsa de gasa.
5. Colocar la bolsa que contiene el material fecal en el embudo.
6. Llenar el embudo con agua tibia.
7. Asegurarse de que el material fecal quede sumergido.
8. Dejar reposar en el aparato por 24 horas.
9. Drenar unos cuantos mililitros de fluido por el cuello del embudo hacia un tubo de ensayo.
10. Dejar sedimentar por lo menos durante 30 minutos.
11. Si se dispone de una centrífuga, el fluido puede ser drenado en un tubo de centrífuga y centrifugar a 1000 rpm por 2 minutos.
12. Usar una pipeta para transferir una gota pequeña de fluido de sedimento a un portaobjetos.
13. Añadir una gota de yodo para fijar la larva y colocar cuidadosamente un cubreobjetos sobre la gota.

14. Cualquier nematodo de vida libre se coloreará de café oscuro muy rápidamente mientras que las larvas de especies parásitas se colorearán muy lentamente debido a que la vaina larvaria protege el cuerpo.

15. observar al microscopio a 10 X.

Figura 1. Montaje para la técnica de Baerman




6.1.3.5. Cálculo de resultados:

Es una técnica cualitativa y determina la presencia o ausencia de parásitos pulmonares en la muestra procesada

6.1.3.6 Valores de referencia:

Con la observación de una sola larva de parásitos se considera positivo.

6.1.4 Formulario de impresos

 Universidad de Nariño	CLINICA VETERINARIA CARLOS MARTINEZ HOYOS CENTRO DIAGNOSTICO VETERINARIO REPORTE DE LABORATORIO RESULTADO PRUEBAS DIAGNOSTICAS	Código: CVE-PRS-FR-04
		Página: 1 de 1
		Versión : 1
		Vigente a Partir de 01/10/2008

NOMBRE PACIENTE : _____ FECHA DE RECEPCION: _____
 ESPECIE : _____ FECHA DE ENTREGA: _____
 MEDICO SOLICITANTE : _____

ANALISIS SOLICITADO:	
1. COPROLOGICO:	
TECNICA	
RESULTADO:	
a. PARA SITOS GASTROINTESTINALES:	
TECNICA	MAC MASTER
RESULTADO:	
b. PARASITOS HEPATICOS:	
TECNICA	DENNIS
RESULTADO:	
c. PARASITOS PULMONARES:	
TECNICA	BAERMAN
RESULTADO S:	

OBSERVACIONES:

NOTA:

Los resultados solo son validos para la muestra procesada

LABORATORIO CLINICO VETERINARIO

lcudenar@gmail.com

6.1.5 Bibliografía:

CENTRO NACIONAL DE SANIDAD AGROPECUARIA. Manual de técnicas Parasitológicas. Ciudad de la Habana.1987.

DEL CAMPILLO, Miguel. Parasitología veterinaria.1 edición, (jul.1999):p.982. <http://www.agapea.com/libros/Parasitologia-veterinaria-isbn-8448602366-i.htm>.

FISHER, Maggie y MCGARRY, John. Fundamentos de Parasitología en Animales de Compañía (2007).

MEHLHORN H, Düvel y RAETHER, W. Manual de Parasitologia Veterinária. Ed Grass-Iatros. España, (1996): p.436. <http://www.fcv.unlp.edu.ar/sitios-catedras/7/bibliografia.php>.

VELES R. Adolfo. Guías en Parasitología Veterinaria. (1983).

UNIVERSIDAD DE NARIÑO

6.2. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS EN HEMATOLOGIA

JULIO DE 2009

INTRODUCCION

El laboratorio de la Clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos” de la Universidad de Nariño inicio labores en el año de 1995 ; desde entonces y hasta el momento ha desarrollado una serie de actualizaciones técnicas e implementación de nuevas pruebas y nuevos equipos que le permiten hoy brindar un servicio de calidad a la comunidad nariñense.

Es un laboratorio que se ubica según la clasificación de la organización mundial de la salud como de **GRUPO DE RIESGO 2** y según sus características de diseño, construcción como **LABORATORIO BASICO-NIVEL DE BIOSEGURIDAD 2**; con capacidad para montar pruebas Hematológicas, Parasitológicas, Serológicas, Citológicas, Microbiología y Uroanálisis

Su acción está orientada dentro de la misión visión de la universidad de Nariño de tal suerte que ofrece sus servicios a pacientes de nuestra misma clínica, remisiones de clínicas veterinarias de la ciudad de pasto, ganaderos de Nariño y parte del putumayo, ofrece también el servicio de asesoría veterinaria profesional a estudiantes del programa de medicina veterinaria de la Universidad cumpliendo así su función académica. Este manual se estructura en la dirección de la clínica a cargo del Dr. Darío Cedeño Quevedo, la dirección científica del laboratorio de la Dra. Katia Benavides romo y la investigación y formulación del manual del auxiliar de laboratorio Alejandro Rodríguez Eraso.

El presente manual integra los procedimientos básicos para el montaje de la prueba de hematología, tomando como referencia la condiciones propias del laboratorio de la clínica veterinaria “Carlos Martínez Hoyos” de la Universidad de Nariño y contiene los procedimientos básicos para el apropiado montaje de el ensayo de diagnostico. Detalla en forma lógica, ordenada y sistemática las principales técnicas básicas del laboratorio de hematología para las especies animales que se remiten a este laboratorio. Su contenido es de fácil comprensión para el personal adscrito al área de laboratorio de la clínica veterinaria así como para estudiantes del programa de medicina veterinaria de la Universidad de Nariño.

El manual contiene los valores de referencia utilizados por el laboratorio, hematocrito, recuento de glóbulos rojos, recuento de glóbulos blancos, recuento diferencial, recuento plaquetario y determinación de proteínas totales.

OBJETIVOS

1. Establecer los procedimientos básicos de un examen de hematología con sus componentes hematocrito, recuento de glóbulos rojos, recuento de glóbulos blancos, recuento diferencial, recuento plaquetario y determinación de Proteínas Totales.
2. Dotar al laboratorio de la Clínica Veterinaria de la Universidad de Nariño un elemento indispensable para el control de calidad, así como una guía de apoyo académico para los estudiantes del programa de la universidad e Nariño.
3. Determinar las diferentes técnicas utilizadas en el montaje de del examen hemograma.

6.2. PROCEDIMIENTO PARA HEMATOLOGIA

a. AREAS DE APLICACION

La aplicación del manual de procedimientos en las técnicas hematológicas nos sirven para estandarizar los procedimientos dentro del laboratorio de la clínica veterinaria de la Universidad de Nariño, sirve como referente a otros laboratorios de diagnóstico veterinario en la región y otros departamentos y para que sea de utilidad al personal técnico y profesional del laboratorio clínico.

Nos sirve como herramienta académica para estudiantes de pregrado, profesores del programa y demás profesionales interesados en el área de laboratorio clínico veterinario.

b. ALCANCE DE LOS PROCEDIMIENTOS

Los procedimientos pueden ser aplicados a las diferentes especies domésticas como lo son: caninos, felinos, ovinos, porcinos, bovinos, equinos y aves.

c. RESPONSABLES

1. El director de la clínica Veterinaria "Carlos Martínez Hoyos".
2. El director científico del laboratorio de la Clínica Veterinaria "Carlos Martínez Hoyos".
3. El personal técnico y profesional del laboratorio de la clínica Veterinaria "Carlos Martínez Hoyos".

d. CONCEPTOS

HEMOGRAMA: El hemograma completo (por su sigla en inglés es CBC) es la prueba de laboratorio en la se van a cuantificar y evaluar diferentes grupos celulares, las glóbulos rojos (eritrocitos), los glóbulos blancos (leucocitos), las plaquetas, el contenido de hemoglobina, y otros parámetros relacionados con su cantidad, forma y contenido.

Hematología: (de gr. hema=sangre, logo=estudio hematología=estudio de la sangre αἷμα, -ατος-, "sangre" y -λογία, "estudio") La hematología es la rama de la ciencia médica que se encarga del estudio de los elementos formes de la sangre y sus precursores, así como de los trastornos estructurales y bioquímicos de estos elementos, que puedan conducir a una enfermedad.

Hemólisis es el fenómeno de la desintegración de los eritrocitos (glóbulos rojos o hematíes).

Campo del microscopio: Se denomina campo del microscopio al círculo visible que se observa a través del microscopio. También podemos definirlo como la porción del plano visible observado a través del microscopio. Si el aumento es mayor, el campo disminuye, lo cual quiere decir que el campo es inversamente proporcional al aumento del microscopio.

Citometría hemática: proviene de *bitos*: célula, *metros* : medida y *haema*: sangre.

Hb: hemoglobina.

VGM: volumen globular medio.

HCM: hemoglobina corpuscular media.

CmHb: concentración media de hemoglobina corpuscular.

CV-VGM: coeficiente de variación del volumen globular medio.

Anticoagulante: es una sustancia endógena o exógena que interfiere o inhibe la coagulación de la sangre, creando un estado pro hemorrágico.

e. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

6.2.1 Hemograma-hemoglobina-hematocrito

El hemograma de Shilling constituye uno de los exámenes de laboratorio más usados en el campo de la hematología. Comprende las siguientes pruebas:

6.2.2 Recuento leucocitario:

Principio.

La sangre anti coagulada se deposita en un líquido que permite evidenciar los leucocitos, manteniéndolos visibles, mientras que los eritrocitos son hemolizados. El recuento del número de leucocitos o glóbulos blancos se expresa por mm³ (milímetro cúbico).

6.2.1.1 Equipos:

-Microscopio.

-Hemocitómetro (Cámara de Neubauer).

Consta de los siguientes elementos:

- Una lámina portaobjeto gruesa, en el centro se hallan dos superficies cuadradas iguales separadas del resto de la lámina por surcos y dos barras transversales algo más elevadas.
- Una laminilla cubreobjetos ópticamente plana, que, al colocarse sobre las barras elevadas de la lámina forma una cámara entre el cubreobjetos y la superficie cuadrada.

La altura entre el cubreobjetos y la lámina portaobjetos es de 0,1 mm. Cada cuadrícula mide 3 mm de lado y se divide en 9 cuadrados grandes. Cada uno de los cuales mide 1 mm² de superficie, que se subdivide a su vez en 16 cuadrados medianos. El cuadrado grande central se divide en 25 cuadrados pequeños y cada uno de ellos en 16 cuadraditos. Cada cuadrado pequeño mide 0,2 mm de lado (0,04 mm² de superficie), y cada cuadradito mide 0,05 mm de lado (0,0025 mm² de superficie).

6.2.1.2 Materiales y reactivos requeridos:

6.2.1.2.1 Pipeta de glóbulos blancos (De Thoma) o pipeta automática (de 0 a 100 mL). Presenta cerca del extremo superior una marca de 11, inmediatamente continúa una dilatación (bulbo) que contiene una perla que funciona como mezcladora, luego sigue el extremo más largo de la pipeta (tallo) que está dividida en 10 partes, con 2 marcas: 1 (parte final del bulbo) y 0,5 (a la mitad del tallo). Se le acopla a su extremo superior 1 tubo de goma y una bombilla para aspirar.

6.2.1.2.2 Diluyente de glóbulos blancos: Solución de Turk al 1%.

6.2.1.2.3 Contador manual (Sólo si fuera necesario).

6.2.1.2.4 Papel filtro.

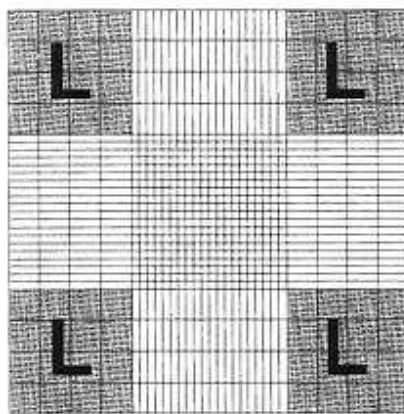
6.2.1.3 Procedimiento:

- a. Una vez obtenida la sangre con anticoagulante o sangre capilar, se procede a aspirar la sangre con la pipeta de glóbulos blancos hasta la marca de 0,5 y a limpiar la punta con papel absorbente.
- b. Introducir la pipeta en el tubo que contenga solución de Turk y absorber hasta la marca de 11 (no debe haber burbujas).
- c. Tapar ambos extremos y proceder a mezclar manualmente o en el rotador automático (Agitador de pipetas hematológicas INDULAB) por 2 ó 3 minutos.

- d. Monte la laminilla de vidrio en la cámara para recuento que debe estar limpia y seca.
- e. Agitar la pipeta y descartar las cuatro primeras gotas para luego colocar una gota pequeña de esta solución en la cámara.
- f. Deje reposar por espacio de 3 minutos para que las células se sedimenten.
- g. Enfocar con objetivo de 10x y contar en 4 cuadrados grandes angulares.

LECTURA

Figura 2. Lectura Celular Blancas, Cámara de Neubauer



La lectura se realiza en los campos 1, 3, 7 y 9 como está indicado en la figura.

Además de los leucocitos contados dentro de cada uno de los cuadrantes, se deben contar todos los leucocitos que se encuentren adheridos en la línea horizontal superior y vertical exterior, o de lo contrario, todos los leucocitos, adheridos a la línea horizontal inferior y vertical interior.

6.2.1.4 Resultados:

N° de leucocitos \times mm^3 = leucocitos contados en 4 campos

Altura \times dilución \times área

Reemplazando = leucocitos contados en 4 campos

$1/10 \times 1/20 \times 4$

= leucocitos contados en 4 campos

4/200

= $X/1 = N^{\circ}$ leucocitos contados x 50

4/200

6.2.1.5 Valores de referencia: Ver anexo A y B.

6.2.2 RECUENTO DE GLÓBULOS ROJOS

Principio

La sangre se diluye en solución salina fisiológica que nos permite observar claramente los hematíes, luego esta dilución se coloca en una cámara de Neubauer con la ayuda de una pipeta automática o pipeta Pasteur y se cuentan en el microscopio a un objetivo de 40x para calcular el número de glóbulos rojos por mm³.

6.2.2.1 Equipos

- Microscopio.
- Hemocitómetro (cámara de Neubauer).

6.2.2.2 Materiales y reactivos requeridos:

- **Pipeta de glóbulos rojos (De Thoma).** Presenta cerca del extremo superior una marca de 101, inmediatamente continúa una dilatación (bulbo) que contiene una perla roja mezcladora, luego sigue el tallo (extremo más largo), el cual está dividido en 10 partes con 2 marcas: 1 acabando el bulbo y 0,5 a la mitad del tallo. Se requiere igual que el recuento de leucocitos una boquilla para aspirar.
- **Diluyente de glóbulos rojos: Cloruro de Sodio al 0,9%**
- **Contador manual (sólo si fuera necesario).**
- **Papel filtro.**

6.2.2.3 Procedimiento:

- a. Mezclar la sangre obtenida con el anticoagulante o tomar sangre capilar.

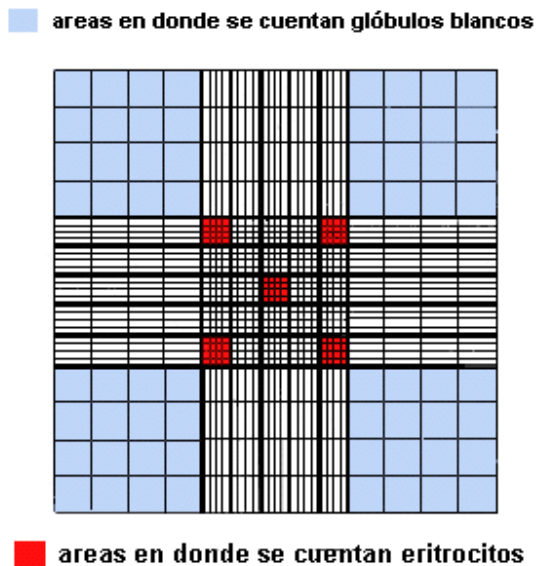
- b. Llenar la pipeta de glóbulos rojos con sangre hasta la marca de 0,5 para realizar una dilución de 1/200, y si se carga hasta 1, la dilución será 1/100. Limpiar la punta con gasa o papel absorbente.
- c. Introducir la pipeta en el tubo o frasquito conteniendo Cloruro de Sodio al 0.9% y llenar de líquido de dilución hasta la marca de 101.
- d. Se coloca en un rotador automático (indulab) o se hace rotar manualmente de 2 a 3 minutos.
- e. Agitar bien la pipeta y descartar 3 a 4 gotas del tallo, luego colocar una gota pequeña cerca de un extremo de la cámara para que por capilaridad se llene exactamente.
- f. Hacer el recuento con objetivo de 40x.
- g. Dejar en reposo por 3 minutos.
- h. Enfocar la cuadrícula a 10x, luego con el objetivo de 40x contar sobre el cuadrado grande central de la cámara sólo en 5 cuadrados pequeños: uno central y cuatro angulares (80 cuadraditos en total).
- i. En el recuento se incluyen las células que cubren o tocan por dentro o por fuera las líneas limitantes superior e izquierda en el cuadrado pequeño de recuento y no se consideran los correspondientes a los límites inferior y derecho. Se hace el recuento en los puntos con la marca roja y se sigue los mismos parámetros del recuento de leucocitos.

Lectura:

CÁMARA DE NEUBAUER

Acercamiento de la cuadrícula para el conteo de eritrocitos.

Figura 3. Lectura células rojas cámara de Neubauer



6.2.2.4 Resultados:

N° de hematíes \times mm^3 = hematíes contados en 5 cuadrados pequeños

Altura \times dilución \times área

Reemplazando = hematíes contados en 5 cuadrados pequeños

$1/10 \times 1/200 \times 1/5$

= hematíes contados en 5 cuadrados pequeños

$1/10\ 000$

= hematíes contados \times 10 000

6.2.2.5 Valores de referencia. Ver ANEXO A Y B.

6.2.3 DETERMINACIÓN DEL VOLUMEN GLOBULAR (Hematocrito)

Mide la fracción que comprende a los glóbulos rojos (masa globular), respecto al volumen total de la muestra de sangre venosa o capilar. Puede expresarse en porcentaje o como valor decimal.

6.2.3.1 Método de microhematocrito:

Materiales requeridos:

-Capilares rojos y azules (75 mm x 1,5 mm).

-Plastilina.

Procedimiento:

- ✓ Tomar la muestra en capilares rojos heparinizados directamente del tubo con la muestra de sangre con anticoagulante o utilizar capilares azules sin heparina para sangre venosa con anticoagulante EDTA. Debe llenarse aproximadamente 70% - 80% del capilar.
- ✓ Ocluir (tapar) un extremo del capilar con plastilina.
- ✓ Colocar el capilar sobre la plataforma del cabezal de una centrífuga de micro hematocrito, con el extremo ocluido adherido al reborde externo de la plataforma.
- ✓ Centrifugar por 5 minutos entre 10 000 - 12 000 rpm.
- ✓ Resultados (lectura)
- ✓ La lectura se realiza con una escala estandarizada que expenden en el comercio.

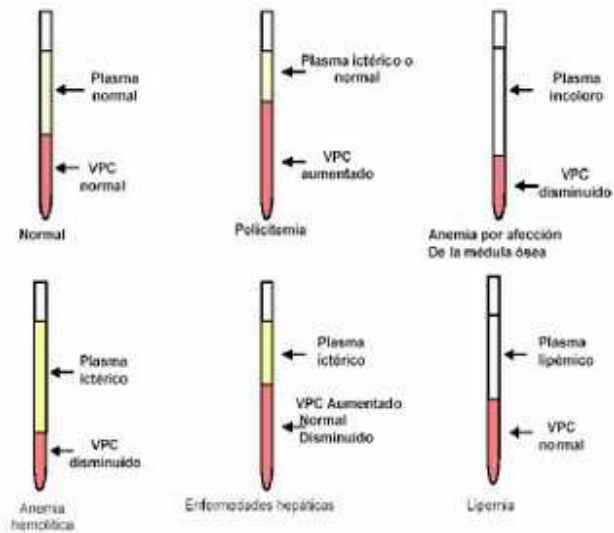
Uso de la escala:

- ✓ Sostenga el tubo frente a la escala de manera que el fondo de la columna de eritrocitos (no el extremo inferior del tubo) quede exactamente al mismo nivel de la línea horizontal correspondiente al cero.
- ✓ Desplace el tubo a través de la escala hasta que la línea marcada con el número 1,0 quede al nivel del tope de la columna de plasma. Vigile que el fondo de la columna de eritrocitos continúe sobre la línea cero. El tubo debe encontrarse completamente en posición vertical.
- ✓ La línea que pase al nivel del tope de la columna de eritrocitos indicará la fracción de volumen de éstos.
- ✓ Valores de referencia:

Ver anexos A y B.

Figura 4. hematocrito disposición celular

La disposición celular es:



- Parte superior, una columna de plasma.
- En la interfase están los leucocitos y plaquetas.
- Parte inferior está la columna de eritrocitos

Figura 5. Lectura hematocrito



6.2.4 Realización y tinción del frotis sanguíneo. La práctica del frotis sanguíneo, también llamado extendido, es de gran importancia en hematología ya que el diagnóstico de muchas enfermedades hematológicas puede realizarse con sólo observar las características morfológicas de las células sanguíneas, de manera que éste no debe ser excesivamente grueso ni excesivamente fino. Todas las láminas por usar, sobre todo nuevas, deben ser limpiadas con algodón y alcohol al 70% para eliminar la grasa que viene adherida.

6.2.4.1 Método de los dos portaobjetos:

6.2.4.1.1 Materiales:

- Alcohol al 70%.
- Algodón.
- Lanceta descartable.
- Portaobjetos de vidrios limpios y desgrasados (25 x 75 mm).

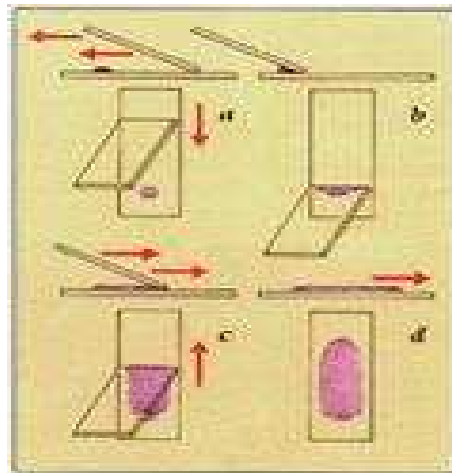
6.2.4.1.2 Fundamento:

Consiste en la extensión de una gota de sangre sobre un portaobjeto (25 x 75), Empleando el canto biselado de otro portaobjeto de igual dimensión.

6.2.4.1.3 Procedimiento:

- ✓ Una vez extraída la sangre con cualquiera de las metodologías, se coloca una pequeña gota de sangre (5mL) (aprox. 3 mm de diámetro) sobre un portaobjeto a 2 cm aproximadamente de uno de los extremos.
- ✓ Colocar el canto de otro portaobjeto esmerilado sobre la superficie del primer portaobjeto (en la que se encuentra la gota de sangre) formando un ángulo de 45°.
- ✓ Deslizar suavemente y a velocidad moderada el portaobjeto sobre el otro en sentido longitudinal, hasta que la gota de sangre quede bien extendida sobre la superficie del primer portaobjeto. El grosor del frotis sanguíneo puede variar según sea el ángulo que formen entre sí ambos portaobjetos. Así, si es superior a 45°, la extensión obtenida será gruesa y corta, si es inferior a 45° será larga y fina. El secado del frotis es a temperatura ambiente y en posición horizontal.

Figura 6. Frotis sanguíneo



EXTENDIDO DE SANGRE

- Zona excesivamente gruesa: Se halla en la región inmediata al punto de partida de la extensión (cabeza). En ella se aprecia siempre un aumento de linfocitos.
- Zona excesivamente fina: Corresponde al final de la extensión y termina en un área donde las células adoptan una posición acartonada (barbas). En esta región existe un exceso de granulocitos y monocitos.

- Zona ideal: Corresponde a la región intermedia del frotis y en ella existe un reparto equilibrado de células.

6.2.4.2 Coloraciones usadas. Una vez seco el frotis, se procede a la tinción hematológica con el colorante de Wright.

6.2.4.2.1 Tinción con colorante de wright:

FUNDAMENTO

El colorante de Wright va a permitir suministrar un medio para estudiar la sangre y determinar las variaciones y anormalidades de estructura, forma y tamaño de los eritrocitos y polimorfo nucleares, su contenido de hemoglobina y sus propiedades de coloración. La información obtenida de un frotis de sangre periférica depende en gran parte de la calidad del extendido y la coloración.

6.2.4.2.2 Materiales

- ✓ Colorante de Wright
- ✓ Frasco gotero.
- ✓ Solución amortiguada tamponada

6.2.4.2.3 Procedimiento:

- a. Una vez obtenido el frotis sanguíneo, se le dejará secar entre 15 y 20 minutos.
- b. Luego se coloca la preparación en un soporte y se cubre con el colorante de Wright, dejándolo por espacio de 3 minutos y 30 segundos.
- c. Posteriormente se añade solución amortiguada tamponada (buffer de Wright) en partes iguales hasta obtener un brillo metálico, dejando otros 3 minutos y 30 segundos.
- d. Finalmente se lava con agua corriente y se deja secar.
- e. Se coloca en el microscopio y, con pequeño aumento, se revisa la calidad de la coloración, la cantidad aproximada de glóbulos blancos y se escoge el sitio para iniciar el recuento. Se coloca una gota de aceite de inmersión y se enfoca a un aumento de 100x. La forma de los glóbulos rojos se examinará detenidamente observando además del color (cantidad de hemoglobina), presencia de plaquetas, su agrupación y distribución.

- f. Posteriormente, se hace el recuento diferencial de glóbulos blancos en 100 células, para lo cual se deberá conocer las diferencias entre Neutrófilos, Eosinófilos, linfocitos y monocitos.

Una extensión de sangre bien teñida debe caracterizarse por una buena diferenciación de las estructuras subcelulares en los leucocitos, una coloración rosada de los hematíes y la ausencia de precipitados.

Los defectos más frecuentes observados en la tinción del frotis sanguíneo son:

Coloración excesivamente azul, debido a:

- Frotis excesivamente grueso.
- Lavado insuficiente.
- Tinción muy prolongada.
- Empleo de colorante excesivamente alcalino.

Coloración con una tonalidad rosada:

- El colorante, el tampón o el agua de lavado tienen un pH demasiado ácido.

Presencia de precipitados:

- Obedecen a una acción excesiva del colorante. Esto se puede evitar con la filtración.

6.2.5 Fórmula leucocitaria. La fórmula leucocitaria tiene por objetivo determinar los porcentajes de las distintas clases de leucocitos normales y anormales en la sangre. A partir de los porcentajes puede incluso calcularse el número real de cada clase de leucocitos por mm³ de sangre (valor absoluto), conociéndose el total de leucocitos.

Conclusión: los valores relativos sólo nos sirven cuando los valores totales de leucocitos se encuentran dentro del valor normal. En caso contrario (leucocitosis o leucopenia) se debe emplear la fórmula para obtener el valor real, y así determinar que elemento celular se encuentra fuera del rango normal, sea elevado o disminuido.

6.2.5.1 Procedimiento:

- Se examina la lámina a pequeño aumento para comprobar si los elementos celulares están bien distribuidos.
- Si es favorable se examina con el objetivo de inmersión. La parte ideal para visualizar células para la fórmula leucocitaria es en la parte final del cuerpo y comienzos de la cola, recorriendo la lámina de izquierda a derecha o de arriba hacia abajo hasta contar 100 leucocitos incluidos los agranulocitos y granulocitos. Aquí no se incluyen los elementos inmaduros de sangre roja.
- A medida que se va contando, se va anotando el número de cada una de las clases de glóbulos blancos observados.
- Se determina luego los porcentajes de cada uno de ellos para luego comparar con los porcentajes normales.

6.2.5.2 Valores de referencia ver anexo A y B.

6.2.6 Anexo A

ANALITO	UNIDADES	Caninos Adultos (*)	Caninos cachorros (**)	Felinos (***)	Equinos (***)	Bovinos (***)	Ovinos (*)
Hematocrito	%	0.37 – 0.55	29 – 34	29 – 47	32 – 44	20 – 38	24 – 50
Hemoglobina	g/L	120 - 180	9.4 – 11.2	8 – 11	10 – 17	9 – 14	8 – 16
Eritrocitos	X 10 ¹² /L	5.5 - 8.5	4.3 – 5.1	5.0– 10.0	6 – 10	5 – 10	8 – 15
VGM	(fl)	60 – 77	63 – 68	40 – 55	34 – 58	40 – 60	
CGMH	g/L	320 – 360	30.8 – 34.4	31 – 35	31 – 37	26 -34	
Leucocitos	X 10 ⁹ /L	6.0 – 17.0	11.3 – 20.1	7 – 13	6 – 10	6.5 – 10	4 – 12

Plaquetas	X 10⁹/L	200 – 900	200 – 900	180-430	200-400	200-800	220-660
Proteínas Totales	g/L	60 – 75	5.6 – 7.0	5.8 – 8.4	6 – 8	6 – 8	60 – 75
Neutrófilos	X 10⁹/L	3.0 – 11.5	3.0 – 11.5	3.6-10	2.6 – 7	1 – 3.5	1 – 5
Neutrófilos Banda	X 10⁹/L	0 – 0.3	0 – 0.3	<=0.5	0.07-0.2	< = 0.2	
Linfocitos	X 10⁹/L	1.0 – 4.8	1.0 – 4.8	1.5-2	2 – 4.5	2.5 – 5.5	2 – 9
Monocitos	X 10⁹/L	0.1 – 1.4	0.1 – 1.4	< = 0.5	0.07-0.3	<= 0.4	0-0.75
Eosinófilos	X 10⁹/L	0.1 – 0.9	0.1 – 0.9	<=0.5	0.07-0.2	0.3 – 1.5	0.1-0.75
Basófilos	X 10⁹/L	Raros	Raros	< = 0.1	< = 0.1	< = 0.1	Raros

(*) Valores de referencia LABORATORIO DE DIAGNOSTICO MORELOS.

(**) Valores de referencia LABORATORIO MEDICO VETERINARIO COTRINO

(***) Valor de referencia laboratorio FUNCEP

6.2.7 Anexo B

ANALITO	UNIDADES	PORCINOS (*)	AVES (*)
Hematocrito	%	32 – 48	30 – 40
Hemoglobina	g/L	10 - 15	9 – 13
Eritrocitos	X 10⁶/mm³	5 – 8	2 – 3
Leucocitos	X 10³/mm³	11 – 22	9 – 56
Neutrófilos	%	28 – 47	30 – 33
Linfocitos	%	39 – 62	33 – 100
Monocitos	%	0 – 2	1 – 9
Eosinófilos	%	1 – 4	1 – 5
Basófilos	%	0 – 2	0 – 9

(*)Sociedad Colombiana de Patología Clínica, DIAGNOSTIVET, Listado de estudios para laboratorio clínico.

6.2.8 Formulario de impresos



UNIVERSIDAD DE NARIÑO
CLINICA VETERINARIA CARLOS MARTINEZ HOYOS
REPORTE DE LABORATORIO - 7314298
CUADRO HEMATICO - lcvudenar@gmail.com



PROPIETARIO :
NOMBRE PACIENTE :
ESPECIE :
MEDICO SOLICITANTE :

FECHA RECEPCION :
FECHA ENTREGA :
RAZA :
FACTURA :

ANALISIS - unidades	VALOR REFERENCIA	RESULTADO	VALOR ABSOLUTO X 10 9/L
HEMATOCRITO (L/L)			
HEMOGLOBINA (g / L)			
RECUENTO ERITROCITOS (x 10 12/L)			
VCM (fl)			
HCM (pg)			
CHCM (g / L)			
PLAQUETAS (x 10 9/L)			
RECUENTO LEUCOCITOS (x 10 9/L)			
CELULAS EN BANDA			
NEUTROFILOS			
LINFOCITOS			
EOSINOFILOS			
BA SOFILOS			
MONOCITOS			
PROTEINAS TOTALES (g/L)			
MORFOLOGIA ERITROCITARIA			
ANISOCITOSIS			
POIQUILOCITOSIS			
POLICROMASIA			
HIPOCROMIA			
PUNTEADO BA SOFILO			
ESFEROCITOS			
AGLUTINACION			
MACROPLAQUETAS			
A SPECTO PLASMA			
HEMOPARASITOS			

Valor de Referencia: Lab. Diagnóstico de MORGUES.

OBSERVACIONES:

NOTA : Los resultados solo son validos para la muestra procesada
LABORATORIO CLINICO VETERINARIO

6.2.9 Bibliografía

Hawkwy, C.M; Denfnet, T. B. – Hematología Veterinaria Comparada. Grass. 1989.
Schalm, O.W. – Hematología Veterinaria. México.

RUDOLPH, W.; VILLOUTA, G. Manual de Hematología Clínica Veterinaria. Vol. 2
U de Chile. 2003.

<http://www.scribd.com/doc/1017962/Manual-de-Procedimientos-de-Laboratorio-Clinico-Veterinario-2>.

COWELL, Rick L. Diagnóstico Citológico y Hematológico del Perro y el Gato.
Barcelona. Elsevier, 2009.474P.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO

6.3. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS EN QUIMICA SANGUINEA

NOVIEMBRE DE 2009

INTRODUCCION

El laboratorio de la Clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos” de la Universidad de Nariño inicio labores en el año de 1995 ; desde entonces y hasta el momento ha desarrollado una serie de actualizaciones técnicas e implementación de nuevas pruebas y nuevos equipos que le permiten hoy brindar un servicio de calidad a la comunidad nariñense.

Es un laboratorio que se ubica según la clasificación de la organización mundial de la salud como de **GRUPO DE RIESGO 2** y según sus características de diseño, construcción como **LABORATORIO BASICO-NIVEL DE BIOSEGURIDAD 2**; con capacidad para montar pruebas Hematológicas, Parasitológicas, Serológicas, Citológicas, Microbiología y Uroanálisis. Su acción está orientada dentro de la misión visión de la universidad de Nariño de tal suerte que ofrece sus servicios a pacientes de nuestra misma clínica, remisiones de clínicas veterinarias de la ciudad de pasto, ganaderos de Nariño y parte del putumayo, ofrece también el servicio de asesoría veterinaria profesional a estudiantes del programa de medicina veterinaria de la Universidad cumpliendo así su función académica.

Este manual se estructura en la dirección de la clínica a cargo del Dr. Darío Cedeño Quevedo, la dirección científica del laboratorio de la Dra. Katia Benavides romo y la investigación y formulación del manual del auxiliar de laboratorio Alejandro Rodríguez Eraso. El presente manual integra los procedimientos básicos para el montaje de la prueba química sanguínea con el equipo STAT FAST 3300, Y REACTIVOS DE LA CASA PRODUCTORA “SPINREACT”, tomando como referencia la condiciones propias del laboratorio de la clínica veterinaria “Carlos Martínez Hoyos” de la Universidad de Nariño y contiene los procedimientos básicos para el apropiado montaje de el ensayo de diagnostico. Detalla en forma lógica, ordenada y sistemática las principales técnicas básicas del laboratorio de química sanguínea para las especies animales que se remiten a este laboratorio. Su contenido es de fácil comprensión para el personal adscrito al área de laboratorio de la clínica veterinaria así como para estudiantes del programa de medicina veterinaria de la Universidad de Nariño.

El manual contiene los valores de referencia utilizados por el laboratorio en la química sanguínea de: CREATININA, ALBUMINA, UREA, GPT(ALT), GOT(AST), FOSFATASA ALCALINA, AMILASA, HEMOGLOBINA, GLUCOSA, COLESTEROL, TRIGLICERIDOS, PROTEINAS TOTALES, ACIDO URICO, CALCIO, MAGNECIO Y FOSFORO para las diferentes especies.

OBJETIVOS

1. Establecer los procedimientos básicos para la preparación y acoplamiento de las pruebas que trabaja el equipo STAT FAST 3300, Y REACTIVOS DE LA CASA PRODUCTORA "SPINREACT" como son: CREATININA, ALBUMINA, UREA, GPT(ALT), GOT(AST), FOSFATASA ALCALINA, AMILASA, HEMOGLOBINA, GLUCOSA, COLESTEROL, TRIGLICERIDOS, PROTEINAS TOTALES, ACIDO URICO, CALCIO, MAGNECIO Y FOSFORO.
2. Dotar al laboratorio de la Clínica Veterinaria de la Universidad de Nariño un elemento indispensable para el control de calidad, así como una guía de apoyo académico para los estudiantes del programa de la universidad e Nariño.

6.3. PROCEDIMIENTO PARA QUIMICA SANGUINEA

a. AREAS DE APLICACION

La aplicación del manual de procedimientos en las técnicas de química sanguínea con el equipo semiautomático STAT FAST 3300, Y REACTIVOS DE LA CASA PRODUCTORA “SPINREACT” nos sirven para estandarizar los procedimientos dentro del laboratorio de la clínica veterinaria de la Universidad de Nariño, sirve como referente a otros laboratorios de diagnóstico veterinario en la región y otros departamentos y para que sea de utilidad al personal técnico y profesional del laboratorio clínico.

Nos sirve como herramienta académica para estudiantes de pregrado, profesores del programa y demás profesionales interesados en el área de laboratorio clínico veterinario.

b. ALCANCE DE LOS PROCEDIMIENTOS

Los procedimientos pueden ser aplicados a las diferentes especies domésticas como lo son: caninos, felinos, porcinos, bovinos y equinos.

c. RESPONSABLES

1. El director de la clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos”.
2. El director científico del laboratorio de la Clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos”.
3. El personal técnico y profesional del laboratorio de la clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos”.

d. CONCEPTOS

Química sanguínea: es un grupo de exámenes de sangre que suministran información acerca del metabolismo del cuerpo. El examen se denomina comúnmente análisis metabólico básico

Estandarizar: “tipificar (ajustar a un tipo o norma), Tipificar: “Ajustar varias cosas semejantes a un tipo o norma común.

Espectrofotometría: es el método de análisis óptico más usado en las investigaciones químicas y biológicas. El espectrofotómetro es un instrumento que permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto, y una que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia.

La colorimetría: es una técnica instrumental que tiene por objeto determinar la absorción de luz visible por una muestra, que puede ser una sustancia pura o bien una mezcla o disolución.

Para ello se utiliza un instrumento constituido por los siguientes elementos:

Fuente de radiación (luz blanca) Sistema dispersivo (rendijas de entrada y salida, y red de difracción) Detector (fototubo que transforma la señal luminosa en una señal eléctrica)
Sistema de medida de la absorción, una vez amplificada (convertidor analógico o digital).

El límite de detección: (LDD) se define habitualmente como la cantidad o concentración mínima de sustancia que puede ser detectada *con fiabilidad* por un método analítico determinado. Intuitivamente, el LDD sería la concentración mínima obtenida a partir de la medida de una muestra (que contiene el analito) que seríamos capaces de discriminar de la concentración obtenida a partir de la medida de un blanco, es decir, de una muestra sin analito presente. El primer problema aparece en la palabra fiabilidad, puesto que ésta implica la introducción de la estadística en la propia definición de LDD y en su cálculo posterior.

e. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO.

6.3.1 Determinación cuantitativa de creatinina

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El ensayo de la creatinina está basado en la reacción de la creatinina con el picrato alcalino descrito por Jaffé.

La creatinina reacciona con el picrato alcalino formando un complejo rojizo. El intervalo de tiempo escogido para las lecturas permite eliminar gran parte de las interferencias conocidas del método.

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de creatinina en la muestra ensayada¹.

SIGNIFICADO CLINICO

La creatinina es el resultado de la degradación de la creatina, componente de los músculos y puede ser transformada en ATP, fuente de energía para las células.

La producción de creatinina depende de la modificación de la masa muscular. Varía poco y los niveles suelen ser muy estables.

Se elimina a través del riñón. En una insuficiencia renal progresiva hay una retención en sangre de urea, creatinina y ácido úrico.

Niveles altos de creatinina son indicativos de patología renal^{1,4,5}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

Tabla 1. Reactivos Creatinina

R 1 Reactivo Pítrico	Ácido pícrico	17,5 mmol/L
R 2 Reactivo Alcalinizante	Hidróxido sódico	0,29 mol/L
CREATININE CAL	Patrón primario acuoso de Creatinina 2 mg/dL	

PRECAUCIONES

Hidróxido sódico: Irritante (Xi): R36/38: Irrita ojos y la piel. S26: En caso de contacto con los ojos, lavar de inmediato con abundante agua y acudir al médico. S37/39: Usar guantes adecuados y proteger cara y ojos. S45: En caso de accidente o malestar, acudir inmediatamente al médico.

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT): Mezclar volúmenes iguales de R 1 Reactivo Pítrico y de R 2 Reactivo Alcalinizante.

Estabilidad del reactivo de trabajo: 10 días a 15-25°C.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

CREATININE CAL

Una vez abierto, es estable 1 mes si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 492 nm $1,80. \geq$

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 492 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

- Suero o plasma heparinizado¹.
Estabilidad de la creatinina: al menos 24 horas a 2-8°C.
- Orina¹: Diluir la muestra al 1/50 con agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 50 (factor de dilución)
Estabilidad de la creatinina: 7 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 492 nm (490-510)
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura. 37°C / 15-25°C
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente al blanco de reactivo.
3. Pipetear en una cubeta:

	BLANCO	PATRÓN	MUESTRA
RT (mL)	1.0	1.0	1.0
PATRÓN(1,2) UI	---	100	---
MUESTRA (uL)	---	---	100

4. Mezclar y poner en marcha el cronómetro.
5. Leer la absorbancia (A_1) al cabo de 30 segundos y al cabo de 90 segundos (A_2) de la adición de la muestra.
6. Calcular: $\Delta A = A_2 - A_1$.

CÁLCULOS

Patrón ΔA - Muestra $\Delta A \times 2$ (Conc. Patrón) = mg/dL de creatinina en la muestra

Factor de conversión: mg/dL x 88,4 = μ mol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

UNIDADES	FELINOS	BOVINOS	EQUINOS	PORCINO	CANINOS
mg/dl	HASTA 1.6	1 - 2	0.8 - 1.6	0.08 - 2.3	HASTA 1.8

Valores de referencia LABORATORIO MEDICO VETERINARIO COTRINO.

Estos valores son orientativos, tomados de LABORATORIO MEDICO VETERINARIO Ltda. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,09 mg/dL hasta el límite de linealidad de 15 mg/dL.

Si la concentración es superior al límite de linealidad, diluir la muestra 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)		
Media (mg/dL)	1,06	3,58	1,03	3,31
SD	0,22	0,06	0,04	0,06
CV (%)	2,07	1,54	3,97	1,75

Sensibilidad analítica: $1 \text{ mg/dL} = \Delta A 0,03 \text{ A/min} \cdot \text{mg/dL}$.

Exactitud: Los reactivos de SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,986

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0,975x + 0,047$

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Hemoglobina (1 g/L), Bilirrubina (55 mg/dL), interfiere¹.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la creatinina^{2,3}.

NOTAS

1. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
2. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
3. **SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFÍA

Murray R.L. Creatinine. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1261-1266 and 418.

Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.

Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.

Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

NOTA: bibliografía según inserto SPINREACT, LOTE D117

6.3.2 Determinación cuantitativa de albúmina

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL METODO

La albúmina se combina con el verde de bromocresol a pH ligeramente ácido, produciéndose un cambio de color del indicador, de amarillo verdoso a verde azulado proporcional a la concentración de albúmina presente en la muestra ensayada^{1,2,3,4}.

SIGNIFICADO CLINICO

La albúmina es una de las más importantes proteínas plasmáticas producidas en el hígado.

Entre sus múltiples funciones se incluye nutrición, mantenimiento de la presión oncótica y transporte de sustancias como Ca⁺⁺, bilirrubina, ácidos grasos, drogas y esteroides.

Alteraciones en los valores de albúmina indican enfermedades del hígado, desnutrición, lesiones de la piel como dermatitis, quemaduras severas o deshidratación^{1,7,8}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

Tabla 2. Reactivos Albumina

R	Verde bromocresol pH 4,2 50 mmol/L
ALBUMIN CAL	Patrón primario acuoso de Albúmina 5 g/dL

PREPARACION

El reactivo y calibrador están listos para su uso.

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

ALBUMIN CAL

Una vez abierto, es estable 1 mes si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 630 nm 0,40. \geq

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 630 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma libre de hemólisis¹: Estabilidad 1 mes a 2-8°C o 1 semana a 15-25°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 630 nm (600-650)

Cubeta: 1 cm paso de luz

Temperatura 15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en una cubeta:

	BLANCO	PATRON	MUESTRA
R (mL)	1.0	1.0	1.0
Patrón(nota:1-2)(uL)	---	5	---
Muestra (uL)	---	---	5

4. Mezclar e incubar 10 min a temperatura ambiente (15-25°C).

5. Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable 1 hora a temperatura ambiente.

CALCULOS

$\text{Patrón} \times A(\text{Muestra}) / A(\text{Patrón}) \times 5 (\text{Conc Patrón}) = \text{g/dL de albúmina en la muestra}$

Factor de conversión: $\text{g/dL} \times 144,9 = \mu\text{mol/L}$

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y. Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

UNIDADES	FELINOS	BOVINOS	EQUINOS	PORCINO	CANINOS
g/dl	2.5 - 2.9				2.4 - 3.6
g/l		27 - 37	26 - 37	79 - 89	

Valores de referencia LABORATORIO MEDICO VETERINARIO COTRINO

Estos valores son orientativos, tomados de LABORATORIO MEDICO VETERINARIO Ltda. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: Desde el *límite de detección* de 0,04 g/dL hasta el *límite de linealidad* de 6 g/dL.

Si la concentración es superior al límite de linealidad, diluir la muestra 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)		
Media (g/dL)	3,38	5,80	3,30	5,67
SD	0,02	0,03	0,26	0,04
CV (%)	0,52	0,49	0,78	0,69

Sensibilidad analítica: 1 g/dL = 0,126 A.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,99.

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0,98x + 0,09$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina hasta 110 mg/L, hemoglobina hasta 1 g/L y lipemia hasta 10 g/L, interfieren^{1,4}.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la albumina^{5,6}.

NOTAS

1. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.

2. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.

3. SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFIA

Gendler S. Uric acid. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1268-1273 and 425.

Rodkey F L. Clin Chem 1965; 11: 478-487.

Webster D. Clin Chem. 1974: Acta 53: 109-115.

Doumas BT Clin Chem. 1971: Acta 31: 87-96.

Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.

Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.

Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

NOTA: bibliografía según inserto SPINREACT, LOTE AL-178

6.3.3 Urea:

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La urea presente en la muestra reacciona con el o-ftalaldehido en medio ácido originando un complejo coloreado que puede cuantificarse espectrofotométricamente:

Urea + o-ftalaldehido Isoindolina →+H

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de urea en la muestra ensayada¹.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La urea es el resultado final del metabolismo de las proteínas; se forma en el hígado a partir de su destrucción.

Puede aparecer la urea elevada en sangre (uremia) en dietas con exceso de proteínas, enfermedades renales, insuficiencia cardíaca, hemorragias gástricas, hipovolemia y obstrucciones renales^{1,4,5}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

TABLA 3. Reactivos úrea

R 1	o-Ftalaldehido	4,8 mmol/L
R 2	Solución borato	87 mmol/L
UREA CAL	Patrón primario acuoso de Urea 50 mg/dL	

PREPARACIÓN

Todos los reactivos están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

UREA CAL

Una vez abierto, es estable 1 mes si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 510 nm $\geq 0,20$.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 510 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio^(Nota 1).

MUESTRAS

- Suero o plasma heparinizado¹: No usar sales de amonio o fluoruro como anticoagulantes.

- Orina¹: Diluir la muestra al 1/50 en agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 50 (factor de dilución). Evitar el crecimiento bacteriano, manteniendo el pH < 4. La urea es estable 5 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 510 nm (500-550)

Cubeta: 1 cm paso de luz

Temperatura: 37°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en tubos de ensayo:

	BLANCO	PATRON	MUESTRA
RT (mL)	1.0	1.0	1.0
Patrón(nota:1-2)(uL)	---	10	---
Muestra (uL)	---	---	10

4. Mezclar e incubar 1 minuto y añadir:

CÁLCULOS

$(A(\text{Muestra})/A\Delta\text{patron}) \times 50$ (Conc. Calibrador) = mg/dL de urea en la muestra

Factor de conversión: mg/dL x 0,1665 = mmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

UNIDADES	FELINOS	BOVINOS	EQUINOS	PORCINO	CANINOS
mg/dl	20 – 30	15 – 25	10 – 24	10 - 25	10 - 28

Valores de referencia LABORATORIO MEDICO VETERINARIO COTRINO.

Estos valores son orientativos, tomados de LABORATORIO MEDICO VETERINARIO Ltda. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,70 mg/dL hasta el límite de linealidad de 200 mg/dL.

Si la concentración es superior al límite de linealidad, diluir la muestra 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

PRECISIÓN:

Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)		
Media (mg/dL)	43,2	145	41,9	147
SD	1,51	1,10	0,80	2,83
CV (%)	3,49	0,76	1,92	1,91

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0.00459 A.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Como anticoagulante se recomienda la heparina. En ningún caso deben utilizarse sales de amonio o fluoruro¹.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la urea^{2,3}

NOTAS

1. El material empleado así como el agua destilada que se utilice deben estar libres de amoníaco y/o sus sales¹.
2. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
3. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
4. SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Kaplan A. Urea. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1257-1260 and 437 and 418.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

NOTA: bibliografía según inserto SPINREACT, LOTE L-221

6.3.4 Determinación cuantitativa de alanina aminotransferasa GPT (ALT)

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL METODO

La alanina aminotrasferasa (ALT) inicialmente llamada transaminasa glutámico pirúvica (GPT) cataliza la transferencia reversible de un grupo amino de la alanina al α -cetoglutarato con formación de glutamato y piruvato. El piruvato producido es reducido a lactato en presencia de lactato deshidrogenasa (LDH) y NADH:

L-Alanina + α -Cetoglutarato → ALT glutamato + Piruvato

Piruvato + NADH + H⁺ → Lactato + NAD⁺ → LDH⁺

La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de ALT en la muestra ensayada¹.

SIGNIFICADO CLINICO

La ALT es una enzima intracelular, se encuentra principalmente en las células del hígado y el riñón.

Su mejor aplicación es en el diagnóstico de las enfermedades del hígado.

Se observan niveles elevados en enfermedades hepáticas como la hepatitis, enfermedades de los músculos y traumatismos.

Cuando se emplean en conjunción con la AST ayuda en el diagnóstico de infartos de miocardio, ya que el valor de la ALT se mantiene dentro de los límites normales y aumenta en los niveles de AST^{1,4,5}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

TABLA 4. Reactivos ALT

R 1 Tampón	TRIS pH 7,8	100 mmol/L
	Lactato deshidrogenasa (LDH)	1200 U/L
	L-Alanina	500 mmol/L
R 2 Substrato	NADH	0,18 mmol/L
	α -Cetoglutarato	15 mmol/L

PREPARACION

Reactivo de trabajo (RT)

Ref: 1001170 disolver (-----) una tableta de R2 substrato en un vial de R1

Estabilidad: 21 días a 2-8°C o 72 horas a temperatura ambiente.

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias del Blanco a 340 < 1,00.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 340 nm.
- Baño termostatable a 25°C, 30°C ó 37°C ($\pm 0,1^\circ\text{C}$)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma¹. Estabilidad de la muestra: 7 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 340 nm

Cubeta: 1 cm paso de luz

Temperatura constante.25°C / 30°C / 37°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.

3. Pipetear en una cubeta:

RT (mL)	1,0
Muestra (μL)	100

4. Mezclar, incubar 1 minuto.

5. Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.

6. Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$).

CALCULOS $\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L de ALT}$

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 μmol de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

Factores de conversión de temperaturas

Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

Temperatura de medición	Factor para convertir a		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,32	1,82
30°C	0,76	1,00	1,39
37°C	0,55	0,72	1,00

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

UNIDADES	FELINOS	BOVINOS	EQUINOS	PORCINO	CANINOS
UI/l	Hasta 72	14 – 38	3 – 23	31 – 58	Hasta 75

Valores de referencia LABORATORIO MEDICO VETERINARIO COTRINO.

Estos valores son orientativos, tomados de LABORATORIO MEDICO VETERINARIO Ltda. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: Desde el *limite de detección* 3,9 U/L hasta el *limite de linealidad* 260 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al limite de linealidad, diluir 1/10 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.

Precisión:

Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)		
Media (U/L)	33,2	128	31,3	129
SD	1,00	1,47	0,94	1,57
CV (%)	3,02	1,14	3,00	1,22

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,00052 ΔA / min.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Los anticoagulantes de uso corriente como la heparina, EDTA oxalato o fluoruro no afectan los resultados. La hemólisis interfiere con la determinación¹. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la ALT^{2,3}.

NOTAS

SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFIA

Murray R. Alanine aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1088-1090.

Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.

Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.

Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. AACC 1999.

Tietz N. W. et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

NOTA: bibliografía según inserto SPINREACT, LOTE 2125T

6.3.5 Determinación cuantitativa de aspartato aminotransferasa GOT (AST)

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL METODO

La aspartato aminotransferasa (AST) inicialmente llamada transaminasa glutamato oxaloacética (GOT) cataliza la transferencia reversible de un grupo amino del aspartato al α -cetoglutarato con formación de glutamato y oxalacetato. El oxalacetato producido es reducido a malato en presencia de malato deshidrogenasa (MDH) y NADH:

Aspartato + α -Cetoglutarato $\xrightarrow{\text{AST}}$ Glutamato + Oxalacetato

Oxalacetato + NADH + H⁺ $\xrightarrow{\text{MDH}}$ Malato + NAD⁺

La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio, determinada fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de AST en la muestra ensayada¹.

SIGNIFICADO CLINICO

La AST es una enzima intracelular, se encuentra en niveles altos en el músculo del corazón, las células del hígado, las células del músculo esquelético y en menor cantidad en otros tejidos.

Aunque un nivel elevado de AST en suero no es específico de enfermedad hepática se emplea principalmente para su diagnóstico y seguimiento, junto con otras enzimas como la ALT y ALP. También se utiliza en el control post-infarto, en pacientes con desordenes del músculo esquelético, y en otras afecciones^{1,4,5}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

Tabla 5. Reactivos AST

R 1	TRIS pH 7,8	80 mmol/L
Tampón	L-Aspartato	200 mmol/L
R 2	NADH	0,18 mmol/L
Substrato	Lactato deshidrogenasa (LDH)	800 U/L
	Malato deshidrogenasa (MDH)	600 U/L
	α -Cetoglutarato	12 mmol/L

PREPARACION

Reactivo de trabajo (RT):

Ref: 1001160 Disolver (→) una tableta de R2 Substrato en un vial de R1.

Ref: 1001161 Disolver (→) una tableta de R2 Substrato en 15 mL de R1.

Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

Estabilidad: 21 días a 2-8°C o 72 horas a temperatura ambiente.

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar las tabletas si aparecen fragmentadas.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias del Blanco a 340 < 1,00.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 340 nm.
- Baño termostatable a 25°C, 30°C ó 37°C ($\pm 0,1^\circ\text{C}$)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma¹. Estabilidad de la muestra: 7 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda:340 nm

Cubeta: 1 cm paso de luz

Temperatura constante25°C / 30°C / 37°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.

3. Pipetear en una cubeta:

RT (mL)	1,0
Muestra (μL)	100

4. Mezclar, incubar 1 minuto.

5. Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.

6. Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$).

CALCULOS

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L de AST}$$

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 μmol de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

Factores de conversión de temperaturas

Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

Temperatura de medición	Factor para convertir a		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,37	2,08
30°C	0,73	1,00	1,54
37°C	0,48	0,65	1,00

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

UNIDADES	FELINOS	BOVINOS	EQUINOS	PORCINO	CANINOS
U/L	Hasta 22	48 – 100	226 - 366	32 – 64	Hasta 20

Valores de referencia LABORATORIO MEDICO VETERINARIO COTRINO.

Estos valores son orientativos, tomados de LABORATORIO MEDICO VETERINARIO Ltda. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 5,44 U/L hasta el límite de linealidad 260 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/10 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.

Precisión:

Intraserie (n= 20)			Interserie (n= 20)	
Media (U/L)	17,4	128	17,1	128
SD	0,68	1,35	0,72	1,28
CV (%)	3,91	1,05	4,20	0,99

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,0017 Δ A/min.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r): 0,99

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0,96x + 1,33$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Los anticoagulantes de uso corriente como la heparina, EDTA oxalato o fluoruro no afectan los resultados. La hemólisis interfiere con la determinación¹.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la AST^{2,3}.

NOTAS

SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFIA

Murray R. Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1112-116.

Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.

Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.

Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

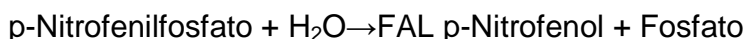
NOTA: bibliografía según inserto SPINREACT, LOTE 2139

6.3.6 Determinación cuantitativa de fosfatasa alcalina (FAL)

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La fosfatasa alcalina (FAL) cataliza la hidrólisis del p-nitrofenilfosfato (pNPP) a pH 10,4 liberando p-nitrofenol y fosfato, según la siguiente reacción:



La velocidad de formación del p-Nitrofenol, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de fosfatasa alcalina en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Las fosfatasas alcalinas son enzimas que se encuentran presentes en casi todos los tejidos del organismo, siendo particularmente alta en huesos, hígado, placenta, intestinos y riñón.

Tanto el aumento como la disminución de los niveles en plasma, tienen significado clínico.

Causas más probables de aumento del nivel de FAL:

Enfermedad ósea de Paget, obstrucciones hepáticas, hepatitis, hepatotoxicidad por medicamentos y osteomalacia.

Causas más probables de disminución del nivel de FAL:

Cretinismo y déficit de vitamina C^{1,5,6}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

Tabla 6. Reactivos FA

R 1	Dietanolamina (DEA) pH 10,4	1 mmol/L
Tampón	Cloruro de magnesio	0,5 mmol/L
R 2	p-Nitrofenilfosfato (pNPP)	10 mmol/L
Substrato		

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT):

Ref: 1001130

Disolver (→) una tableta de R 2 Substrato en un vial de R 1 Tampón.

Ref: 1001131

Disolver (→) una tableta de R 2 Substrato en 15 mL de R 1 Tampón.

Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

Estabilidad: 21 días a 2-8°C o 5 días a temperatura ambiente.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar las tabletas si aparecen fragmentadas.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias del Blanco a 405 \geq 1,30.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 405 nm.
- Baño termostatable a 25°C, 30°C ó 37°C ($\pm 0,1^\circ\text{C}$)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma heparinizado¹.

Suero libre de hemólisis, separado de los hematies lo antes posible.

Estabilidad: 3 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda:405 nm

Cubeta:..... 1 cm paso de luz

Temperatura constante. 25°C / 30°C / 37°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.

3. Pipetear en una cubeta:

RT (mL)	1,2
Muestra (μL)	20

4. Mezclar, incubar 1 minuto.

5. Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.

6. Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$).

CÁLCULOS

$$\Delta A/\text{min} \times 3300 = \text{U/L de FAL}$$

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 μmol de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

Factores de conversión de temperaturas

Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

Temperatura de medición	Factor para convertir a		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,22	2,64
30°C	0,82	1,00	1,33
37°C	0,61	0,75	1,00

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

UNIDADES	FELINOS	BOVINOS	EQUINOS	PORCINO	CANINOS
U/L	12 - 65	0 - 488	70 - 230	118 - 395	11 - 100

Valores de referencia LABORATORIO MEDICO VETERINARIO COTRINO.

Estos valores son orientativos, tomados de LABORATORIO MEDICO VETERINARIO Ltda. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 4,26 U/L hasta el límite de linealidad 825 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CIna 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)		
Media (U/L)	175	393	176	410
SD	2,28	5,48	4,60	10,4
CV (%)	1,30	1,40	2,61	2,53

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,0003 Δ A/min.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

El fluoruro, oxalato, citrato y EDTA inhiben la actividad de la fosfatasa alcalina, por lo que no deben ser utilizados como anticoagulantes.

La hemólisis interfiere debido a la elevada concentración de fosfatasa alcalina en los hematies^{1,2}. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la fosfatasa alcalina^{3,4}.

NOTAS

SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Wenger C. et al. Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1094-1098.
- Rosalki S et al. Clin Chem 1993; 39/4: 648-652.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

NOTA: bibliografía según inserto SPINREACT, LOTE 2169T

6.3.7 Determinación cuantitativa de α -amilasa (AMS)

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La α -amilasa hidroliza el 2-cloro-4-nitrofenil- α -D-maltotriósido (CNPG₃) a 2-cloro-4-nitrofenol (CNP) y forma 2-cloro-4-nitrofenil- α -D-maltoside (CNPG₂), maltotriosa (G₃) y glucosa (G), según la siguiente reacción:



La velocidad de formación de 2-cloro-4-nitrofenol, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de α -amilasa en la muestra ensayada¹.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La α -amilasa (AMS) es una enzima que ayuda a digerir el glucógeno y el almidón. Se produce principalmente en las glándulas salivales y el páncreas exocrino. Su determinación se realiza principalmente para diagnosticar o controlar enfermedades del páncreas como pancreatitis crónica o aguda. Puede reflejar también enfermedad de la vesícula biliar, algunos problemas gastrointestinales y otros trastornos^{2,5,6}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

Tabla 7. Reactivos AMILASA

R	MES pH 6,0	100 mmol/L
	CNPG3	2,25 mmol/L
	Cloruro sódico	350 mmol/L
	Acetato cálcico	6 mmol/L
	Tiocianato potásico	900 mmol/L
	Ácida sódica	0,95 gr/L

PREPARACIÓN

Reactivo listo para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Una vez abierto el reactivo es estable 60 días, si se cierra inmediatamente después de su uso y se conserva a 2-8°C.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancias del Blanco a 405 \geq 0,50.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 405 nm.
- Baño termostatable a 37°C ^(Nota 1).
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio ^(Nota 2).

MUESTRAS

- Suero o plasma¹, separado lo antes posible de los hematies. Como anticoagulante se recomienda la heparina.

- Orina, ajustar el pH aproximadamente a 7,0 antes de conservar.

Estabilidad: 1 mes a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda:405 nm

Cubeta:1 cm paso de luz

Temperatura constante 37°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en una cubeta:

	Suero o Plasma	Orina
R (mL)	1.0	1.0
Muestra	20	10

4. Mezclar, incubar 30 segundos.

5. Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronometro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.

6. Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$).

CÁLCULOS

Suero o plasma $\Delta A/\text{min} \times 3954 = \text{U/L AMS}$

Orina $\Delta A/\text{min} \times 7908 = \text{U/L AMS}$

Unidades: La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 μmol de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

Factor de conversión: $\text{U/L} \times 0,01667 = \mu\text{kat/L}$.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

UNIDADES	FELINOS	BOVINOS	EQUINOS	PORCINO	CANINOS
UI					185 - 700

Valores de referencia LABORATORIO MEDICO VETERINARIO COTRINO.

Estos valores son orientativos, tomados de LABORATORIO MEDICO VETERINARIO Ltda. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 1 U/L hasta el límite de linealidad 2000 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)		
Media (U/L)	61,2	165	65,1	172
SD	1,00	2,44	2,84	4,57
CV (%)	1,64	1,47	4,36	2,65

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,0003 ΔA/min.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

La hemólisis interfiere en los resultados¹. La actividad α-amilasa puede ser inhibida por agentes quelantes como citrato y EDTA.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la α-amilasa^{3,4}.

NOTAS

1. La α-amilasa es temperatura-dependiente, los ensayos realizados a temperaturas <37°C o >37°C pueden variar los resultados.

2. La saliva y el sudor contienen α-amilasa. Evitar el pipeteo con la boca y el contacto de la piel con el reactivo o material empleado.

3. Contiene tiocianato potásico. Evitar inhalación o contacto del reactivo con la piel y ojos. En tal caso, lavar la piel y los ojos con abundante agua y consultar a un médico.

4. SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

Ying Foo A et al. Amylase measurement with 2-chloro-4-nitrophenyl maltrotrioside as substrate. Clin Chim 272, 1998; 137-147.

McNeely M. Amylase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1112-1116.

Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.

Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.

Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

NOTA: bibliografía según inserto SPINREACT, LOTE 174

6.3.8 Determinación cuantitativa de hemoglobina:

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL METODO

La hemoglobina es oxidada por la acción del ferricianuro a metahemoglobina y mediante el cianuro se convierte en cianmetahemoglobina.

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de hemoglobina presente en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLINICO

La hemoglobina es una proteína que contiene hierro, otorga el color rojo a la sangre. Se encuentra en los glóbulos rojos y es la encargada del transporte de oxígeno por la sangre desde los pulmones a los tejidos. Cuando el nivel de hemoglobina aparece por debajo de los niveles normales indica anemia que puede obedecer a diferentes causas: anemia primaria, cáncer, embarazo, enfermedades renales o hemorragias.

Si el nivel de hemoglobina es alto puede deberse a cardiopatías, deshidratación o estancia en lugares de gran altitud^{1,5,6}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

Tabla 8. Reactivos Hemoglobina

HEMOGLOBIN 50x	Ferricianuro de potasio	0,60 mmol/L
	Cianuro de potasio	0,90 mmol/L
	Dihidrogeno fosfato de potasio	2 mmol/L
Patrón de Hemoglobina 15 g/dL		
Origen animal		

PRECAUCIONES

HEMOGLOBIN Ref: 1001230

Nocivo (Xn): R20/21/22: Nocivo por inhalación, ingestión y en contacto con la piel. S7: Mantener el recipiente bien cerrado. S/28.1: En contacto con la piel, lavar inmediatamente y abundantemente con agua. S45: En caso de accidente o malestar, acudir inmediatamente al médico.

Cianuro (venenoso): La concentración de cianuro en el Reactivo concentrado (50x) es sensiblemente menor que la dosis mínima letal para el adulto. Su acidificación puede provocar liberación de ácido cianhídrico.

PREPARACION

Reactivo de trabajo (RT):

- Para 5 mL 4,9 mL agua destilada + 2 gotas de Reactivo
- Para 250 mL 245 mL agua destilada + 1 frasco (5 mL) de Reactivo

Mezclar bien.

Estabilidad: 2 meses en nevera a 2-8°C, protegido de la luz.

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 540 nm 0,01. \geq

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 540 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Sangre capilar o venosa¹.

Usar anticoagulantes como EDTA, heparina u oxalato.

Estabilidad de la muestra: 1 semana a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 540 nm

Cubeta:1 cm paso de luz

Temperatura 15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (ML)	5.0	5.0	5.0
Calibrador (uL)	----	20	----
Muestra (uL)	----	----	20

4. Mezclar e incubar 3 minutos a temperatura ambiente (15-25°C).

5. Leer la absorbancia (A) del calibrador y la muestra, frente al Blanco de reactivo.

CALCULOS

- **Con factor²:**

(A) Muestra x 36,77 = g/dL de hemoglobina en la muestra

- **Con Patrón:**

Patrón)A(Muestra)A(x 15 (Conc. Patrón) = g/dL de hemoglobina en la muestra

CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

UNIDADES	FELINOS	BOVINOS	EQUINOS	PORCINO	CANINOS
g/l	8 – 11	9 – 14	10 - 17	10 - 15	120 – 180

Valores de referencia LABORATORIO MEDICO VETERINARIO COTRINO.

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia. Ver tabla pagina 20 y 21 valores de referencia en hematología.

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,1 g/dL hasta el límite de linealidad de 20 g/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (g/dL)	8,00	15,2	7,81	15,1
SD	0,29	0,33	0,19	0,26
CV (%)	3,59	2,19	2,51	1,74

Sensibilidad analítica: 1 g/dL = 0,027 A.

Exactitud: Los reactivos de SPINREACT no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la hemoglobina^{3,4}.

NOTAS

SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFIA

Franco R S. Hemoglobin. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1294-1296 and 418.

Van Kampen EJ et al. Standardization of hemoglobinometry Clin. Chim 1961;6: 438-544.

Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.

Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.

Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC 1999.

Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

NOTA: bibliografía según inserto SPINREACT, LOTE 212 - A

6.3.9 Determinación cuantitativa de glucosa:

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La glucosa oxidasa (GOD) cataliza la oxidación de glucosa a ácido glucónico. El peróxido de hidrógeno (H₂O₂), producido se detecta mediante un aceptor cromogénico de oxígeno, fenol-ampirona en presencia de peroxidasa (POD):



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La glucosa es la mayor fuente de energía para las células del organismo; la insulina facilita la entrada de glucosa en las células.

La diabetes mellitus es una enfermedad que cursa con una hiperglucemia, causada por un déficit de insulina^{1,5,6}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

Tabla 9. Reactivos Glucosa

R 1	TRIS pH 7,4	92 mmol/L
Tampón	Fenol	0,3 mmol/L
R 2	Glucosa oxidasa (GOD)	15000 U/L
Enzimas	Peroxidasa (POD)	1000 U/L
	4 - Aminofenazona (4-AF)	2,6 mmol/L
GLUCOSE CAL	Patrón primario acuoso de Glucosa 100 mg/dL	

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT): Disolver (→) el contenido de un vial de R 2 Enzimas en un frasco de R 1 Tampón. Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

Estabilidad: 1 mes en nevera (2-8°C) o 7 días a Temperatura ambiente (15-25°C).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

GLUCOSE CAL

Una vez abierto, es estable 1 mes si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 505 nm 0,10. ≥

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm.

- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma, libre de hemólisis¹ y LCR.

El suero debe separarse lo antes posible del coágulo.

Estabilidad: La glucosa en suero o plasma es estable 3 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 505 nm (490-550)

Cubeta: 1 cm paso de luz

Temperatura. 37°C / 15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (ML)	1.0	1.0	1.0
Patrón(nota 1,2) (uL)	----	10	----
Muestra (uL)	----	----	10

4. Mezclar e incubar 10 minutos a 37°C ó 30 min a temperatura ambiente (15-25°C).

5. Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

CÁLCULOS

Patrón)A(Muestra)A(x 100 (Conc. Patrón) = mg/dL de glucosa en la muestra

Factor de conversión: mg/dL x 0,0555= mmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles.

VALORES DE REFERENCIA

UNIDADES	FELINOS	BOVINOS	EQUINOS	PORCINO	CANINOS
mg/dl	60 – 130	40 – 60	75 - 115	85 – 115	55 - 110

Valores de referencia LABORATORIO MEDICO VETERINARIO COTRINO.

Estos valores son orientativos, tomados de LABORATORIO MEDICO VETERINARIO Ltda. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,04 mg/dL hasta el límite de linealidad de 500 mg/dL.

Si la concentración es superior al límite de linealidad, diluir la muestra 1/2 con CIna 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)		
Media (mg/dL)	96,8	241	98,4	248
SD	0,81	1,43	1,55	3,73
CV (%)	0,83	0,59	1,58	1,50

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,0036 A.

Exactitud: Los reactivos de SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coeficiente de correlación (r): 0,99.

Ecuación de la recta de regresión: $y = 1,0x + 0,12$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No se han observado interferencias con: hemoglobina hasta 4 g/L, bilirrubina hasta 20 mg/L, creatinina hasta 100 mg/L, galactosa hasta 1 g/L.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la glucosa^{3,4}.

NOTAS

1. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
2. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
3. SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Kaplan A. Glucose. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1032-1036.
- Trinder P. Ann Clin Biochem 1969; 6: 24-33.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

NOTA: bibliografía según inserto SPINREACT, LOTE S - 318

6.3.10 Determinación cuantitativa de colesterol:

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL METODO

El colesterol presente en la muestra origina un compuesto coloreado según la reacción siguiente:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLINICO

El colesterol es una sustancia grasa presente en todas las células del organismo. El hígado produce naturalmente todo el colesterol que necesita para formar las membranas celulares y producir ciertas hormonas. La determinación del colesterol es uno de las herramientas más importantes para el diagnóstico y clasificación de las lipemias. El aumento del nivel de colesterol es uno de los principales factores de riesgo cardiovascular^{5,6}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

TABLA 10. Reactivos Colesterol:

R 1	PIPES pH 6,9	90 mmol/L
Tampón	Fenol	26 mmol/L
R 2	Colesterol esterasa (CHE)	300 U/L
	Colesterol oxidasa (CHOD)	300 U/L
	Enzimas Peroxidasa (POD)	1250 U/L
	4 - Aminofenazona (4-AF)	0,4 mmol/L
CHOLESTEROL CAL	Patrón primario acuoso de Colesterol 200 mg/dL	

PREPARACION

Reactivo de trabajo (RT): Disolver () el contenido de un vial de R 2 Enzimas en 1 frasco de R 1 Tampón. →

Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

Estabilidad (RT): 4 meses en nevera (2-8°C) o 40 días 15-25°C.

Mantener protegido de la luz

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

CHOLESTEROL CAL

Una vez abierto, es estable 1 mes si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 505 nm 0,1. ≥

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm (500-550).
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma^{1,2}: Estabilidad de la muestra 7 días a 2-8°C y varios meses si se mantiene la muestra congelada (-20°C).

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 505 nm (500-550)

Cubeta: 1 cm paso de luz

Temperatura37°C /15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (ML)	1.0	1.0	1.0
Patrón(nota 1,2) (uL)	----	10	----
Muestra (uL)	----	----	10

4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C ó 10 min. a temperatura ambiente.

5. Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 60 minutos.

CALCULOS

$\text{Patrón} \cdot A(\text{Muestra}) / A(\text{Patrón}) \times 200 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de colesterol en la muestra}$

Factor de conversión: mg/dL x 0,0258= mmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

UNIDADES	FELINOS	BOVINOS	EQUINOS	PORCINO	CANINOS
mmol/l	1.04 – 2.23	2.07 – 3.11	1.94 – 3.89	0.93 – 1.4	2.85 – 7.76

Valores de referencia LABORATORIO MEDICO VETERINARIO COTRINO.

Estos valores son orientativos, tomados de LABORATORIO MEDICO VETERINARIO Ltda. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: Desde el *límite de detección* de 0,6 mg/dL hasta el *límite de linealidad* de 600 mg/dL.

Si la concentración es superior al límite de linealidad, diluir la muestra 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)		
Media (mg/dL)	90,1	305	90,4	301
SD	0,64	3,30	1,12	2,30
CV (%)	0,71	1,08	1,24	0,76

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,002 A.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,995.

Ecuación de la recta de regresión: $y = 1,004x - 0,931$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No se han observado interferencias de hemoglobina hasta 5 g/L y bilirrubina hasta 10 mg/dL^{1,2}.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del Colesterol^{3,4}.

NOTAS

1. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.

2. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
3. SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFIA

Naito H.K. Cholesterol. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1194-11206 and 437.
 Meiattini F. et al. The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone Chromogenic System. Clin Chem 1978; 24 (12): 2161-2165.
 Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
 Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
 Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
 Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

NOTA: bibliografía según inserto SPINREACT, LOTE 192

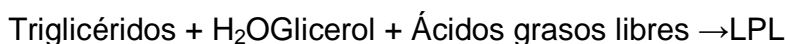
6.3.11 Determinación cuantitativa de triglicéridos

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL METODO

Los triglicéridos incubados con lipoproteinlipasa (LPL) liberan glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por glicerolfosfato deshidrogenasa (GPO) y ATP en presencia de glicerol quinasa (GK) para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina-5-difosfato (ADP). El G3P es entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrogeno (H₂O₂) por GPO.

Al final, el peróxido de hidrogeno (H₂O₂) reacciona con 4-aminofenazona (4-AF) y p-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa (POD) dando una coloración roja:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra ensayada^{1,2,3}.

SIGNIFICADO CLINICO

Los triglicéridos son grasas que suministran energía a la célula.

Al igual que el colesterol, son transportados a las células del organismo por las lipoproteínas en la sangre.

Una dieta alta en grasas saturadas o carbohidratos puede elevar los niveles de triglicéridos.

Su aumento es relativamente inespecífico. Diversas dolencias, como ciertas disfunciones hepáticas (cirrosis, hepatitis, obstrucción biliar) o diabetes mellitus, pueden estar asociadas con su elevación^{3,6,7}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

Tabla 11. Reactivos Trigliceridos

R 1	GOOD pH 7,5	50 mmol/L
Tampón	p-Clorofenol	2 mmol/L
R 2 Enzimas	Lipoprotein lipasa (LPL) Glicerol quinasa (GK)	150000 U/L
	Glicerol-3-oxidasa (GPO) Peroxidasa (POD)	500 U/L
	4 – Aminophenazone (4-AF)	2500 U/L
	ATP	440 U/L
		0,1 mmol/L
		0,1 mmol/L
TRIGLYCERIDES CAL	Patrón primario acuoso de Triglicéridos	200 mg/dL

PREPARACION

Reactivo de trabajo (RT): Disolver () el contenido de un vial de R 2 Enzimas en un frasco de R 1 Tampón. →

Ref: 1001310 Reactivo de trabajo (RT): Reconstituir (→) el contenido de un vial de R 2 Enzimas en 10 mL de R 1 Tampón.

Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

RT Estabilidad: 6 semanas en nevera (2-8°C) o una semana a 15-25°C.

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

TRIGLYCERIDES CAL

Una vez abierto, es estable 1 mes si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 505 nm $\geq 0,14$.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero y plasma heparinizado o EDTA ¹. Estabilidad de la muestra: 5 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 505 (490-550) nm

Cubeta: 1 cm paso de luz

Temperatura 37°C / 15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (ML)	1.0	1.0	1.0
Patrón(nota 1,2) (uL)	----	10	----
Muestra (uL)	----	----	10

4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C o 10 min. a temperatura ambiente.

5. Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

CALCULOS

$\text{Patrón} \cdot A(\text{Muestra}) \cdot A(x \cdot 200 \text{ (Conc. Patrón)}) = \text{mg/dL de triglicéridos en la muestra}$

Factor de conversión: $\text{mg/dL} \times 0,0113 = \text{mmol/L}$.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: Desde el *límite de detección* de 0,7 mg/dL hasta el *límite de linealidad* de 1000 mg/dL.

Si la concentración es superior al límite de linealidad, diluir la muestra 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)		
Media (mg/dL)	118	216	119	215
SD	0,67	0,94	2,17	2,91
CV (%)	0,60	0,43	1,83	1,36

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,0012 A.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,996.

Ecuación de la recta de regresión: $y = 1,00x + 0,0743$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No se han observado interferencias con bilirrubina hasta 170 $\mu\text{mol/L}$ y hemoglobina hasta 10 g/L^2 .

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de los triglicéridos ^{4,5}.

NOTAS

1. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
2. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
3. SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFIA

- Buccolo G et al. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. Clin Chem 1973; 19 (5): 476-482.
- Fossati P et al. Clin. Chem 1982; 28(10): 2077-2080.
- Kaplan A et al. Triglycerides. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 437 and Lipids 1194-1206.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

NOTA: bibliografía según inserto SPINREACT, LOTE 123

6.3.12 Determinación cuantitativa de proteínas totales:

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

En medio alcalino, las proteínas dan un intenso color violeta azulado en presencia de sales de cobre; contiene yoduro como antioxidante.

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de proteína total en la muestra ensayada^{1,4}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Las proteínas son compuestos orgánicos macromoleculares, ampliamente distribuidos en el organismo. Actúan como elementos estructurales y de transporte. Se dividen en dos fracciones, albúmina y globulinas.

Su determinación es útil en la detección de:

- Hiperproteinemia producida por hemoconcentración, deshidratación o aumento en la concentración de proteínas específicas.
- Hipoproteinemia por hemodilución debida a un defecto en la síntesis proteica, pérdidas excesivas (hemorragias) o catabolismo proteico excesivo^{4,5}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

Tabla 12. Reactivos Proteínas Totales

R Biuret	Potasio sodio tartrato	15 mmol/L
	Yoduro sódico	100 mmol/L
	Yoduro de potasio	5 mmol/L
	Sulfato de cobre (II)	5 mmol/L
T PROTEIN CAL	Patrón primario de Albúmina Bovina 7 g/dL	

PREPARACION

Los reactivos están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

T PROTEIN CAL

Una vez abierto, es estable 1 mes si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 540 nm $\geq 0,22$.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ó analizador para lecturas a 540 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma heparinizado¹.

Estabilidad de la muestra: 1 mes en nevera a (2-8°C).

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda. 540 (530 -550) nm

Cubeta: 1 cm paso de luz

Temperatura. 37°C / 15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
R (ML)	1.0	1.0	1.0
Patrón(nota 1,2) (uL)	----	25	----
Muestra (uL)	----	----	25

4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C o 10 minutos a T^a ambiente.

5. Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

CÁLCULOS

$\text{Patrón} \times A(\text{Muestra}) / A(\text{Patrón}) \times 7 (\text{Conc. Patrón}) = \text{g/dL de proteínas totales}$

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTRON H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

UNIDADES	FELINOS	BOVINOS	EQUINOS	PORCINO	CANINOS
g/l	54 – 78	60 – 74	42 – 79	60 - 89	54 - 71

Valores de referencia LABORATORIO MEDICO VETERINARIO COTRINO.

Estos valores son orientativos, tomados de LABORATORIO MEDICO VETERINARIO Ltda. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,20 g/dL hasta el límite de linealidad de 15 g/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)		
Media (g/dL)	5,07	9,64	5,15	9,74
SD	0,04	0,08	0,06	0,14
CV (%)	0,88	0,90	1,23	1,43

Sensibilidad analítica: 1 g/dL = 0,07 A.

Exactitud: Los reactivos de SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coeficiente de correlación (r): 0,9918

Ecuación de la recta de regresión: $y = 1,0164x - 0,1264$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Hemoglobina y lipemia^{1,4}.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de las proteínas^{2,3}.

NOTAS

1. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
2. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
3. SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

Koller A. Total serum protein. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1316-1324 and 418.
Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

NOTA: bibliografía según inserto SPINREACT, LOTE D - 176

6.3.13 Determinación cuantitativa de ácido úrico

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El ácido úrico es oxidado por la uricasa a alantoína y peróxido de hidrógeno (2H₂O₂) que en presencia de peroxidasa (POD), 4-aminofenazona (4-AF) y 2-4 Diclorofenol Sulfonato (DCPS) forma un compuesto rosáceo:



La intensidad de quinonaimina roja formada es proporcional a la concentración de ácido úrico presente en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

El ácido úrico y sus sales son el producto final del metabolismo de las purinas. En una insuficiencia renal progresiva hay una retención en sangre de urea, creatinina y ácido úrico.

Niveles altos de ácido úrico son indicativos de patología renal y generalmente se asocia con la gota^{1,5,6}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

TABLA 13. Reactivos Ácido Úrico

R 1	Fosfatos pH 7,4	50 mmol/L
Tampón	2-4 Diclorofenol Sulfonato (DCPS)	4 mmol/L
R 2	Uricasa	60 U/L
Enzimas	Peroxidasa (POD)	660 U/L
	Ascorbato oxidasa	200 U/L
	4 - Aminofenazona (4-AF)	1 mmol/L
URIC ACID CAL	Patrón primario acuoso de Ácido úrico	6 mg/dL

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT): Disolver () el contenido de un vial de R 2 Enzimas en un frasco de R 1 Tampón. Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido. Estabilidad: 1 mes en nevera (2-8°C) o 10 días a temperatura ambiente. →

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

URIC ACID CAL

Una vez abierto, es estable 1 mes si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 520 nm 0,16. \geq

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 520 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

- Suero o plasma¹: Estabilidad 3-5 días a 2-8°C y 6 meses a -20°C.
- Orina (24 h)¹: Estabilidad 3 días a temperatura ambiente a pH > 8. Diluir la muestra al 1/50 en agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 50 (factor de dilución); Si la muestra es turbia, calentarla a 60°C 10 min para disolver los precipitados de urato y ácido úrico. No refrigerar.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda:520 nm (490-550)

Cubeta:1 cm paso de luz

Temperatura 37°C / 15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1.0	1.0	1.0
Patrón(nota 1,2) (uL)	----	25	----
Muestra (uL)	----	----	25

4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C ó 10 min. 15-25°C.

5. Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

CÁLCULOS

Suero o plasma

$\text{Patrón} \cdot A(\text{Muestra}) / A(\text{Patrón}) \times 6 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de ácido úrico en la muestra}$

Orina 24 h

$\text{Patrón} \cdot A(\text{Muestra}) / A(\text{Patrón}) \times 6 \times \text{vol. (dL) orina/24h} = \text{mg/24 h de ácido úrico}$

Factor de conversión: mg/dL x 59,5= µmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

No se utilizan en este laboratorio.

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,03 mg/dL hasta el límite de linealidad de 25 mg/dL.

Si la concentración es superior al límite de linealidad, diluir la muestra 1/2 con CIna 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)		
Media (mg/L)	4,74	11,4	4,72	11,2
SD	0,03	0,06	0,07	0,15
CV (%)	0,63	0,56	1,58	1,36

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,0347 A.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,99.

Ecuación de la recta de regresión: $y=1,005x + 0,0005$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No se han observado interferencias con bilirrubina hasta 170 $\mu\text{mol/L}$, hemoglobina hasta 130 mg/dL y ácido ascórbico hasta 570 $\mu\text{mol/L}^2$.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del ácido úrico^{3,4}.

NOTAS

1. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
2. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
3. SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Schultz A. Uric acid. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1261-1266 and 418.
Fossati P et al. Clin Chem 1980;26:227-231.
Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

NOTA: bibliografía según inserto SPINREACT, LOTE 291

6.3.14 Determinación cuantitativa de calcio:

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La medición del calcio se basa en la formación de un complejo coloreado entre el calcio de la muestra y la *o*-cresolftaleína, en medio alcalino:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de calcio presente en la muestra ensayada^{1,2,3}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

El calcio es el mineral más abundante e importante del cuerpo humano, el 99 % se halla en los huesos.

Una disminución de los niveles de albúmina causa una disminución del calcio en suero. Niveles bajos de calcio pueden atribuirse a hipoparatiroidismo, pseudohipoparatiroidismo, déficit de vitamina D, malnutrición o mala absorción

La mayoría de las causas de hipercalcemia son debidas a enfermedades oncológicas, intoxicación por vitamina D, aumento de la retención renal, osteoporosis, sarcosidosis, tirotoxicosis e hiperparatiroidismo^{1,6,7}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

Tabla 14. Reactivos Calcio

R 1 Tampón	Etanolamina	500 mmol/L
R 2 Cromógeno	o-Cresolftaleína	0,62 mmol/L
	8-Hidroxiquinoleína	69 mmol/L
CALCIUM CAL	Patrón primario acuoso de Calcio 10 mg/dL	

PREPARACIÓN

Los reactivos y el patrón están listos para su uso.

Si se desea preparar monoreactivo, mezclar según la proporción: 50 vol. de R1 y 1 vol. de R2.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

La estabilidad del monoreactivo es de 5 días a 2-8°C.

CALCIUM CAL

Una vez abierto, es estable 1 mes si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 570 nm $\geq 0,2$.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador con cubeta para lecturas a 570 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio^(Nota 1,2).

MUESTRAS

- Suero o plasma¹: Separado lo antes posible de los hematíes. No usar oxalato o EDTA como anticoagulantes ya que interfieren en la determinación del calcio.

- Orina¹: Efectuar la recogida de orina de 24 horas en recipientes libres de calcio. Antes de la recogida adicionar al contenedor 10 mL de ácido nítrico al 50% (v/v). Anotar el volumen.

Diluir la orina 1/2 en agua destilada para su análisis. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 2 (factor de dilución).

Estabilidad de la muestra: El calcio es estable 10 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 570 nm (550-590)

Cubeta: 1 cm paso de luz

Temperatura 37°C / 15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en una cubeta:

	BLANCO	PATRÓN	MUESTRA
R1 (mL)	1.0	1.0	1.0
R2 (mL)	1.0	1.0	1.0
Patrón (Nota 3,4)(uL)	----	20	---
Muestra (uL)	----	----	20

4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C / 15-25°C.

5. Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 40 minutos.

CÁLCULOS

Suero o plasma

$\text{Patrón}A(\text{Muestra})A(x 10 (\text{Conc. Patrón})) = \text{mg/dL de calcio en la muestra}$

Orina 24 h

Patrón)A(Muestra)A(x 10 x vol. (dL) orina/24h = mg/24 h de calcio en la muestra

Factor de conversión: mg/dL x 0,25= mmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

UNIDADES	FELINOS	BOVINOS	EQUINOS	PORCINO	CANINOS
mg/dl	6.2 – 10 .2	9 – 11	11.2 – 13.6	35 – 54	8 - 12

Valores de referencia LABORATORIO MEDICO VETERINARIO COTRINO.

Estos valores son orientativos, tomados de LABORATORIO MEDICO VETERINARIO Ltda. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,17 mg/dL hasta el límite de linealidad de 15 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)		
Media (mg/dL)	8,62	14,9	8,02	14,9
SD	0,06	0,12	0,14	0,28
CV (%)	0,68	0,81	1,76	1,89

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,043 A.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,99.

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0,97x + 0,26$

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Triglicéridos $\leq 1,25$ g/L, no interfieren¹. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del calcio^{4,5}.

NOTAS

1. Se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso. Si se usa material de vidrio deberá lavarse con ácido nítrico diluido con agua (1/1), enjuagar varias veces con agua destilada y secar antes de su uso.
2. La mayoría de detergentes destinados a uso del laboratorio contienen agentes quelantes. Trazas de los mismos, como consecuencia de un mal aclarado del material, invalida la determinación.
3. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
4. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.

5. SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

Farell E C. Calcium. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1051-1255 and 418.

Kessler G. et al. Clin Chem 1964; 10 (8); 686-706.

Connerty H. V. et al. Am J Clin Path 1996; 45 (3); 200-296.

Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.

Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.

Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC 1999.

Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

NOTA: bibliografía según inserto SPINREACT, LOTE D - 119

6.3.15 Determinación cuantitativa de magnesio:

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL METODO

El magnesio forma un complejo de color púrpura al reaccionar con la calmagita en medio alcalino^(Nota 1).

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de magnesio en la muestra ensayada¹.

SIGNIFICADO CLINICO

El magnesio, es el segundo catión intracelular más abundante en el organismo humano después del potasio, siendo esencial en gran número de procesos enzimáticos y metabólicos.

Es un cofactor en todas las reacciones enzimáticas que involucran al ATP y forma parte de la membrana que mantiene la excitabilidad eléctrica de las células musculares y nerviosas.

Principales causas de déficit de magnesio son mala absorción intestinal, administración de diuréticos o aminoglucósidos, hiperparatiroidismo o acidosis diabética.

Niveles altos de magnesio se hallan en la uremia, fallo renal, glomerulonefritis, enfermedad de Addison o terapia intensiva con antiácidos^{1,4,5}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

Tabla 15. Reactivos Magnesio

R 1	Amino-metil-propanol	1 mmol/L
Tampón	EGTA	0,21 mmol/L
R 2	Calmagita	0,30 mmol/L
Cromógeno		
MAGNESIUM CAL	Patrón primario acuoso de Magnesio	2 mg/dL

PREPARACION

Reactivo de trabajo (RT):

Mezclar volúmenes iguales de R 1 Tampón y de R 2 Cromógeno.

Estabilidad del reactivo de trabajo: 4 días en nevera (2-8°C) o 24 horas a temperatura ambiente (15-25°C).

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

MAGNESIUM CAL

Una vez abierto, es estable 1 mes si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 520 \geq 1,4.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ó analizador para lecturas a 520 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio^(Nota 2).

MUESTRAS

- Suero o plasma heparinizado¹:
Libre de hemólisis. Separado lo antes posible de los hematies.

No usar oxalato o EDTA como anticoagulante.

Estabilidad de la muestra: 7 días a 2-8°C.

- Orina¹:

Ajustar a pH 1 con CIH. Si la muestra es turbia, calentarla a 60°C 10 min. para disolver los precipitados.

Diluir la muestra 1/10 con agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado por 10 (factor de dilución).

Estabilidad de la muestra: 3 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 520 nm (500-550)

Cubeta: 1 cm paso de luz

Temperatura 37°C / 15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1.0	1.0	1.0
Patrón(nota 3,4) (uL)	----	10	----
Muestra (uL)	----	----	10

4. Mezclar e incubar 5 min a temperatura ambiente o 3 minutos a 37°C.
5. Leer la absorbancia (A) del calibrador y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

CALCULOS

Patrón)A(Muestra)A(x 2 (Conc. Patrón) = mg/dL de magnesio en la muestra

Factores de conversión:

mg/dL x 0,412= mmol/L ó

0,5 mmol/L = 1.0 mEq/L = 1,22 mg/dL = 12,2 mg/L¹.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

UNIDADES	FELINOS	BOVINOS	EQUINOS	PORCINO	CANINOS
mmol/l	0.9	0.74 – 0.95	0.9 – 1.15	1.11 – 1.52	0.74 – 0.99

Valores de referencia LABORATORIO MEDICO VETERINARIO COTRINO.

Estos valores son orientativos, tomados de LABORATORIO MEDICO VETERINARIO Ltda. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: Desde el *límite de detección* de 0,2 mg/dL hasta el *límite de linealidad* de 5 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)		
Media (mg/dL)	2,39	4,01	2,27	4,14
SD	0,02	0,07	0,07	0,13
CV (%)	1,18	1,73	2,99	3,22

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,055 A.

Exactitud: Los reactivos de SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Hemólisis. Los anticoagulantes a excepción de la heparina¹.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del magnesio^{2,3}.

NOTAS

1. La interferencia con el calcio se evita con la adición de EGTA.
2. Se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso para evitar contaminaciones de calcio o magnesio. En caso de utilizar material de vidrio deberá lavarse con una solución de H₂SO₄ - K₂Cr₂O₇, enjuagar varias veces con agua destilada y secar antes de su uso.
3. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. Se recomienda utilizar calibradores séricos.
4. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
5. SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFIA

Farrell E C. Magnesium. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1065-1069.

Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.

Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.

Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

NOTA: bibliografía según inserto SPINREACT, LOTE P - 100

6.3.16 Determinación cuantitativa de fósforo:

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL METODO

Método directo para la determinación de fósforo inorgánico.

El fósforo inorgánico reacciona en medio ácido con molibdato amónico formando un complejo fosfomolibdico de color amarillo.

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de fósforo inorgánico presente en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLINICO

El fósforo, es esencial para la formación del tejido óseo y el metabolismo energético celular. Aproximadamente un 85% se encuentra en el hueso y en los dientes.

Niveles bajos de fósforo pueden ser debidos a hipervitaminosis D, hipertiroidismo primario, desordenes renales, ingestión de antiácidos o mala absorción.

Niveles altos son atribuidos a la dieta, metástasis de huesos, alteraciones en el hígado, alcoholismo, diarreas y vómitos^{1,5,6}.

El diagnostico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

Tabla 16. Reactivos Fosforo

R Molibdico	Molibdato amónico	0,40 mM
	Ácido sulfúrico (SO ₄ H ₂)	210 mM
	Detergente	
PHOSPHORUS CAL	Patrón primario acuoso de Fósforo 5 mg/dL	

PRECAUCIONES

Ácido sulfúrico: Corrosivo (C). R34: Provoca quemaduras.

S26: En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acudir a un médico. S30: No echar jamás agua a este producto. S45: En caso de accidente o malestar, acúdase inmediatamente al médico.

PREPARACION

Reactivo y Patrón listos para su uso.

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

PHOSPHORUS CAL

Una vez abierto, es estable 1 mes si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 340 nm \geq 0,54.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ó analizador para lecturas a 340 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.

- Equipamiento habitual de laboratorio^(Nota 1).

MUESTRAS

- Suero o plasma^{1,5}: Libre de hemólisis. El suero o plasma deben separarse lo antes posible de los eritrocitos con el fin de evitar la liberación de fósforo de los hematies. Estabilidad: 7 días a 2-8°C.

- Orina^{1,2} (24 h):

Recoger la orina en recipientes conteniendo 10 mL de ácido clorhídrico (ClH) al 10% (v/v) para evitar la precipitación de fosfatos. Ajustar pH 2.

Diluir la muestra 1/10 con agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado por 10 (factor de dilución). Estabilidad: 10 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 340 nm

Cubeta: 1 cm paso de luz

Temperatura 37 / 30 / 25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1.0	1.0	1.0
Patrón(nota 3,4) (uL)	----	10	----
Muestra (uL)	----	----	10

4. Mezclar e incubar 5 minutos.

5. Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo.

CALCULOS

Suero: Patrón)A(Muestra)A(x 5 (Conc. Patrón) = mg/dL de fósforo en la muestra

Orina 24 h: Patrón)A(Muestra)A(x 5 x vol. (dL) orina/24h = mg/24 h de fósforo

Factor de conversión: mg/dL x 0,323= mmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

UNIDADES	FELINOS	BOVINOS	EQUINOS	PORCINO	CANINOS
mg/dl	4.5 – 8.1	5 – 6.5	3.1 – 5.6	5.3 – 9.6	2.6 – 6.2

Valores de referencia LABORATORIO MEDICO VETERINARIO COTRINO.

Estos valores son orientativos, tomados de LABORATORIO MEDICO VETERINARIO Ltda. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: Desde el *límite de detección* de 0,07 mg/dL hasta el *límite de linealidad* de 15 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CINA 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Intraserie (n= 20)	Interserie (n= 20)			
Media (mg/dL)	3,44	5,84	3,45	5,83
SD	0,02	0,04	0,02	0,04
CV (%)	0,64	0,64	0,72	0,68

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,053 A.

Exactitud: Los reactivos de SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x). El ensayo con 50 muestras dio los siguientes resultados:

Coeficiente de correlación (r): 0,9938.

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0,9902x + 0,0749$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No realizar la prueba con muestras hemolizadas ya que los hematies contiene una alta concentración de esteres de fósforo orgánico, que es hidrolizado a fósforo inorgánico durante su conservación, el incremento es de 4-5 mg/dL por día⁵. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del fosforo^{3,4}.

NOTAS

1. La mayoría de detergentes utilizados para el lavado de material contienen quelantes y fosfatos que interfieren en el ensayo. Se recomienda limpiar el material con ácido nítrico diluido y enjuagar abundantemente con agua desionizada.

La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.

Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.

SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFIA

Farrell E C. Phosphorus. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1072-1074 and 418.

Daly J A. et al. Clin Chem 1972; 18 (3): 263-265.

Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.


Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.

Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC 1999.

Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

NOTA: bibliografía según inserto SPINREACT, LOTE D – 117.

6.3.17 Formulario de Impresos

 Universidad de Nariño	CLINICA VETERINARIA CARLOS MARTINEZ HOYOS CENTRO DE DIAGNOSTICO VETERINARIO REPORTE DE LABORATORIO QUIMICA SANGUINEA	Código: CVE-PRS-FR-03
		Página: 1 de 1
		Versión: 1
		Vigente a Partir de 01/10/2008

PROPIETARIO : ANGELA TRUJILLO	FECHA RECEPCION :	13/10/2009
NOMBRE PACIENTE : SASHA	FECHA ENTREGA:	13/10/2009
ESPECIE : CANINA	RAZA :	
MEDICO SOLICITANTE : JENNY ROMERO	FACTURA:	

ANALISIS SOLICITADO	UNIDADES	VALOR DE REFERENCIA	RESULTADO
PROTEINAS TOTALES	g/L		
ALBUMINA	g/dl		
BUN	mg/dl		
BILIRRUBINA TOTAL	mg/dl		
BILIRRUBINA DIRECTA	mg/dl		
BILIRRUBINA INDIRECTA	mg/dl		
CALCIO	mg/dl		
CREATININA	mg/dl		
FÓSFORO	mg/dl		
GLICEMIA	mg/dl		
MAGNESIO	mg/dl		
SODIO	mmol/l		
POTASIO	mmol/l		
ALT	U/l		
AST	U/l		
FOSFATASA ALCALINA	U/l		
GAMMA GT	U/l		
T4 LIBRE			
COLESTEROL	mmol/l		
ASPECTO DEL SUERO:			

OBSERVACIONES:

NOTA :

Los resultados solo son validos para la muestra procesada
 * Valor Referencia. FUNCEP - BOGOTÁ

LABORATORIO CLINICO VETERINARIO
 lcvudenar@gmail.com 7314298

Valores de referencia química sanguínea

ANALITO	UNIDADES	CANINO	FELINO	BOVINO	EQUINO	PORCINO
CREATININA	Mg/dl	HASTA 1.8	HASTA 1.6	1 – 2	0.8 – 1.6	0.08 – 2.3
ALBUMINA	g/dl	2.4 – 3.6	2.5 – 2.9			
	g/l			27 – 37	26 - 37	79 – 89
UREA	Mg/dl	10 - 28	20 – 30	15 – 25	10 - 24	10 – 25
ALT	UI/l	HASTA 75	HASTA 72	14 – 38	3 -23	31 – 58
AST	UI/ l	HASTA 20	HASTA 22	48 – 100	226 - 366	32 – 64
FOSFATASA ALCALINA	UI/l	11 - 100	12 – 65	0 – 488	70 - 230	118 – 395
AMILASA	UI	185 - 700				
HEMOGLOBINA	g/l	120 - 180	8 -11	9 – 14	10 - 17	10 – 15
GLUCOSA	Mg/dl	55 - 110	60 – 130	40 – 60	75 - 115	85 – 115
COLESTEROL	Mmol/l	2.85 – 7.76	1.04 – 2.23	2.07 – 3.11	1.94 – 3.89	0.93 – 1.4
PROT – TOTALES	g/dl	54 -71	54 -78	60 – 74	42 - 79	60 - 89
CALCIO	Mg/ dl	8 - 12	6.2 – 10.2	9 – 11	11,2 – 13,6	35 – 54
MAGNESIO	Mmmol/l	0.74 – 0.99		0.74 – 0,95	0.9 – 1.15	1.11 – 1.52
FOSFORO	Mg/dl	2.6 – 6.2	4.5 – 8.1	5 – 6.5	3.1 – 5.6	5.3 – 9.6

Valores de referencia LABORATORIO MEDICO VETERINARIO COTRINO.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO

6.4.MANUAL DE PROCEDIMIENTOS EN UROLOGIA

NOVIEMBRE DE 2009.

INTRODUCCION

El laboratorio de la Clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos” de la Universidad de Nariño inicio labores en el año de 1995 ; desde entonces y hasta el momento ha desarrollado una serie de actualizaciones técnicas e implementación de nuevas pruebas y nuevos equipos que le permiten hoy brindar un servicio de calidad a la comunidad nariñense.

Es un laboratorio que se ubica según la clasificación de la organización mundial de la salud como de **GRUPO DE RIESGO 2** y según sus características de diseño, construcción como **LABORATORIO BASICO-NIVEL DE BIOSEGURIDAD 2**; con capacidad para montar pruebas Hematológicas, Parasitológicas, Serológicas, Citológicas, Microbiología y Uroanálisis

Su acción está orientada dentro de la misión visión de la universidad de Nariño de tal suerte que ofrece sus servicios a pacientes de nuestra misma clínica, remisiones de clínicas veterinarias de la ciudad de pasto, ganaderos de Nariño y parte del putumayo, ofrece también el servicio de asesoría veterinaria profesional a estudiantes del programa de medicina veterinaria de la Universidad cumpliendo así su función académica. Este manual se estructura en la dirección de la clínica a cargo del Dr. Darío Cedeño Quevedo, la dirección científica del laboratorio de la Dra. Katia Benavides Romo y la investigación y formulación del manual del auxiliar de laboratorio Alejandro Rodríguez Eraso. El presente manual integra los procedimientos básicos para el montaje de la prueba de Uroanálisis con el kit de tiras reactivas de orina MULTISTIX 10 GS, tomando como referencia la condiciones propias del laboratorio de la clínica veterinaria “Carlos Martínez Hoyos” de la Universidad de Nariño y contiene los procedimientos básicos para el apropiado montaje de el ensayo de diagnostico. Detalla en forma lógica, ordenada y sistemática la utilización y lectura para la técnica básica del laboratorio de Uroanálisis con tira reactiva MULTISTIX 10 GS para las especies animales que se remiten a este laboratorio.

Su contenido es de fácil comprensión para el personal adscrito al área de laboratorio de la clínica veterinaria así como para estudiantes del programa de Medicina Veterinaria de la Universidad de Nariño.

El manual contiene los valores de referencia utilizados por el laboratorio y describe las técnicas para la identificación en orina de: LEUCOCITOS, NITRITOS, UROBILINOGENO, PROTEINAS, PH, SANGRE OCULTA, GRAVEDAD ESPECIFICA, CETONA, BILIRRUBINA Y SEDIMENTO URINARIO.

OBJETIVOS

1. Establecer los procedimientos básicos para el montaje de la tira reactiva de orina MULTISTIX 10 SG y lectura de sedimento urinario en la técnica de Uroanálisis en las diferentes especies veterinarias.
2. Dotar al laboratorio de la Clínica Veterinaria de la Universidad de Nariño un elemento indispensable para el control de calidad, así como una guía de apoyo académico para los estudiantes del programa de la universidad de Nariño.

6.4.-PROCEDIMIENTO PARA UROANALISIS

a. AREAS DE APLICACIÓN

La aplicación del manual de procedimientos en la técnica de UROANALISIS con tira reactiva MULTISTIX 10 SG y sedimento urinario sirve para estandarizar los procedimientos dentro del laboratorio de la clínica veterinaria de la Universidad de Nariño, es además un referente para otros laboratorios de diagnóstico veterinario en la región y otros departamentos y para que sea de utilidad al personal técnico y profesional del laboratorio clínico.

Es útil como herramienta académica para estudiantes de pregrado, profesores del programa y demás profesionales interesados en el área de laboratorio clínico veterinario.

b. ALCANCE DE LOS PROCEDIMIENTOS

Los procedimientos pueden ser aplicados a las diferentes especies domésticas como lo son: caninos, felinos, ovinos, porcinos, bovinos y equinos.

c. RESPONSABLES

1. El director de la clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos”.
2. El director científico del laboratorio de la Clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos”.
3. El personal técnico y profesional del laboratorio de la clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos”.

d. CONCEPTOS

Parcial de orina: describe un perfil o grupo de pruebas tamiz con capacidad para detectar enfermedad renal, del tracto urinario o sistémico. Desde el punto de vista de los procedimientos médicos, la orina se ha descrito como una biopsia líquida, obtenida de forma indolora, y para muchos, la mejor herramienta de diagnóstico no invasiva de las que dispone el médico.

Glomérulo es la unidad anatómica funcional del riñón donde radica la función de aclaramiento o filtración del plasma sanguíneo.

Refractometría: al método de calcular el índice de refracción (una propiedad física fundamental de cualquier sustancia) de una muestra para, por ejemplo,

conocer su composición, densidad o pureza. Los refractómetros son los instrumentos empleados para determinar este índice de refracción. A pesar de que los refractómetros son más eficaces para medir líquidos, también se emplean para medir sólidos y gases, como vidrios o gemas.

e. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO.

6.4.1 Tiras reactivas de orina multistix 10 SG

Se denomina examen de orina al siguiente grupo de exámenes que se realizan en este líquido: volumen, densidad, pH, glucosa, acetona, hemoglobina, urobilinogeno y sedimento; es el más antiguo de los exámenes de laboratorio Clínico y su importancia se debe al gran número de padecimientos pre-renales, renales y post-renales que pueden causar modificaciones en los caracteres físicos y químicos de la orina.

Toda muestra de orina deberá ser procesada dentro de un lapso no mayor a una hora después del momento de su recolección

6.4.1.1 Principio. De todos los compuestos químicos del plasma que atraviesan el glomérulo renal (agua, glucosa, sodio, potasio, fósforo, urea, etc.), unos se reabsorben totalmente en los túbulos renales (glucosa), otros casi totalmente (agua y sodio), otros menos, como el fósforo y algunos no se reabsorben como la creatinina.

Los compuestos que quedan después de haber atravesado los túbulos renales son los que forman la orina en conjunto con sustancias tóxicas o de desecho como fosfatos. Las tiras sensibles comerciales están diseñadas para percibir algunas sustancias que se encuentran en la orina y se ha estandarizado los rangos normales de dichas sustancias.

6.4.1.2 Equipos y materiales:

- ✓ Tiras reactivas multistix 10 SG
- ✓ Refractómetro.
- ✓ Microscopio.
- ✓ Centrifuga.
- ✓ Láminas.
- ✓ Láminillas.
- ✓ Tubos de ensayo.

6.4.1.3 Reactivos:

- ✓ TURK
- ✓ TINCIÓN DE WRIGHT

6.4.1.4. Material Biológico:

- ✓ Orina de perro
- ✓ Orina de gato
- ✓ Orina de cerdo
- ✓ Orina de bovino u ovino

6.4.1.5 Procedimiento:

6.4.1.5.1 Exámen físico de la orina. Se vierte la muestra de orina sobre un tubo de ensayo se la observa a contraluz para determinar el grado de turbidez y el color.

6.4.1.5.1.1 Cálculo de resultados: determinación cualitativa

6.4.1.5.1.2 Valores de referencia:

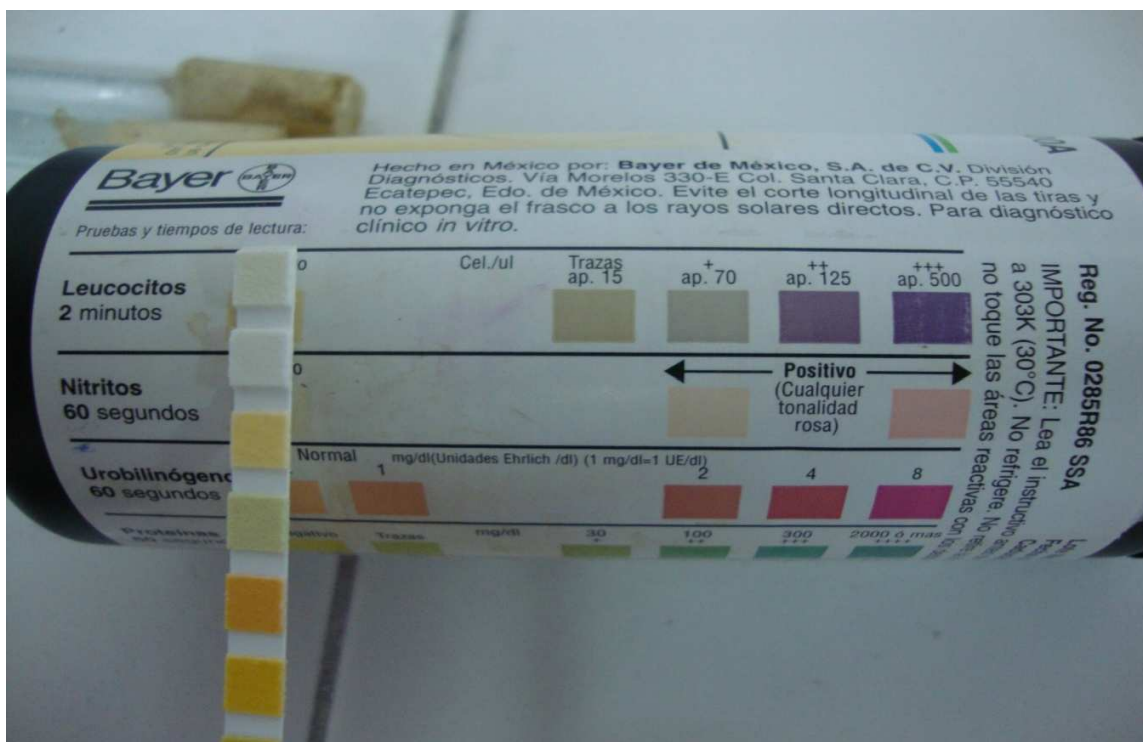
Color	Posibles causas
Amarillo fuerte/ Anaranjado/ Amarillo verdoso	Orina muy concentrada. Bilirrubina. Algunos fármacos: nitrofurantoina, metronidazol, sulfamidas...
R rojo/R rojo marronáceo	Hematuria. Hemoglobinuria. Mioglobinuria
Incoloro/Amarillo claro	Orina diluida. Investigar presencia de poliuria

- ✓ Transparente
- ✓ Turbio

6.4.1.5.2 Examen químico de la orina

- ✓ Se toma una tira de MULTISTIX 10 SG y se empapa en la orina que está en el tubo de ensayo; se retira y se deja reposar por 2 minutos sobre una superficie plana.

- ✓ Se hace una valoración comparativa con los rangos que aparecen en el recipiente que trae las tirillas como aparece en la siguiente figura.



- ✓ CALCULO DE RESULTADOS: DETERMINACION CUALITATIVA
- ✓ VALORES DE REFERENCIA

ANALITO	CANNINOS	FELINOS
LEUCOCITOS		
NITRITOS		
UROBILINOGENO	Traza – 1+	Traza – 1+
PROTEINA	0 – 1+	0 – 1+
PH	5.5 – 7.5	5.5 – 7.5
SANGRE	0	0
CETONA	0	0
BILIRRUBINA	0 – 1 +	0
GLUCOSA	0	0
DENSIDAD	1.015 – 1.040	1.015 – 1.040

Valores de referencia laboratorio CARLOS LOPEZ. CALI - VALLE

6.4.1.5.3 Sedimento urinario.

6.4.1.5.3.1 Procedimiento:

1. Centrifugar la orina por 5 minutos.
2. Eliminar el contenido dejando en el tubo solo unas gotas.
3. Verter sobre una lamina una gota del sedimento urinario y sobreponer una laminilla.
4. Mirar al microscopio a 10X y 40X.
5. Adicionar una gota de TURK.
6. Mirar al microscopio a 10X y 40X.
7. Realizar un extendido sobre una lamina utilizando una gota de sedimento urinario dejar secar al aire libre.
8. Realizar tinción de WRIGHT
 - 3 Minutos 30 segundos tinción de WRIGHT
 - 3 Minutos 30 segundos BUFER DE WRIGHT.
 - Lavar con agua corriente y dejar secar al aire libre.
9. Mirar al microscopio a 10X y 40X.


6.4.1.5.3.2 Cálculo de resultados: determinación cualitativa

6.4.1.5.3.3 Valores de referencia

ANALISIS	RESULTADO	ANALISIS	RESULTADO
CELULAS ESCAMOSAS	CRUCES	BACTERIAS	CRUCES
CELULAS TRANSICIONALES	CRUCES	MOCO	CRUCES
CELULAS RENALES	CRUCES	LEVADURA	CRUCES
ESPERMATOZOIDES	CRUCES	LEUCOCITOS	CRUCES
ERITROCITOS	CRUCES	(Menor 4)	

- una cruz (+): leve.
- dos cruces (++) moderada.
- tres cruces (+++) alta.

6.4.2 Formulario de Impresos

	CLINICA VETERINARIA CARLOS MARTINEZ HOYOS CENTRO DE DIAGNOSTICO VETERINARIO REPORTE DE LABORATORIO UROANALISIS	Código: CVE-PRS-FR-05
		Página: 1 de 1
		Versión: 1
		Vigente a Partir de 01/10/2008

PROPIETARIO :
 NOMBRE PACIENTE :
 ESPECIE :
 MEDICO SOLICITANTE :

FECHA RECEPCION :
 FECHA ENTREGA:
 RAZA :
 FACTURA:

RECOLECCION :

Hora de Recoleccion:

Procesamiento :

COLOR:

ASPECTO:

ANALISIS	UNIDADES	VLR/ REF	RESULTADO
LEUCOCITOS			
NITRITOS			
UROBILINOGENO			
PROTEINAS			
PH			
SANGRE			
CETONA			
BILIRRUBINA			
GLUCOSA			
DENSIDAD (REFRACTÓMETRO)			

ANALISIS	RESULTADO	ANALISIS	RESULTADO
CELULAS ESCAMOSAS		BACTERIAS	
CELULAS TRANSICIONALES		MOCO	
CELULAS RENALES		LEVADURA	
ESPERMATOZOIDES		LEUCOCITOS	
ERITROCITOS(Menor 4)		(Menor 4)	

GRAM	
CRISTALES	
CILINDROS	

OBSERVACIONES:

NOTA : Los resultados solo son válidos para la muestra procesada
LABORATORIO CLINICO VETERINARIO

✓ VALORES DE REFERENCIA EXAMEN QUIMICO DE ORINA.

ANALITO	CANNINOS	FELINOS
LEUCOCITOS		
NITRITOS		
UROBILINOGENO	Traza – 1+	Traza – 1+
PROTEINA	0 – 1+	0 – 1+
PH	5.5 – 7.5	5.5 – 7.5
SANGRE	0	0
CETONA	0	0
BILIRRUBINA	0 – 1 +	0
GLUCOSA	0	0
DENSIDAD	1.015 – 1.040	1.015 – 1.040

Valores de referencia laboratorio CARLOS LOPEZ. CALI - VALLE

BIBLIOGRAFIA

CARRAL Y.Teresa. Lecciones de patología renal, Mexico, Instituto Nacional de Cardiología, 1998. P.32

COWELL. Rick L. Diagnóstico Citológico y Hematológico del Perro y el Gato. Barcelona. Elsevier, 2009.474P.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO

6.5. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS EN CITOLOGIA

JULIO DE 2009.

INTRODUCCION

El laboratorio de la Clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos” de la Universidad de Nariño inicio labores en el año de 1995 ; desde entonces y hasta el momento ha desarrollado una serie de actualizaciones técnicas e implementación de nuevas pruebas y nuevos equipos que le permiten hoy brindar un servicio de calidad a la comunidad nariñense.

Es un laboratorio que se ubica según la clasificación de la organización mundial de la salud como de **GRUPO DE RIESGO 2** y según sus características de diseño, construcción como **LABORATORIO BASICO-NIVEL DE BIOSEGURIDAD 2**; con capacidad para montar pruebas Hematológicas, Parasitológicas, Serológicas, Citológicas, Microbiología y Uroanálisis.

Su acción está orientada dentro de la misión visión de la universidad de Nariño de tal suerte que ofrece sus servicios a pacientes de nuestra misma clínica, remisiones de clínicas veterinarias de la ciudad de pasto, ganaderos de Nariño y parte del putumayo, ofrece también el servicio de asesoría veterinaria profesional a estudiantes del programa de medicina veterinaria de la Universidad cumpliendo así su función académica.

Este manual se estructura en la dirección de la clínica a cargo del Dr. Darío Cedeño Quevedo, la dirección científica del laboratorio de la Dra. Katia Benavides Romo y la investigación y formulación del manual del auxiliar de laboratorio Alejandro Rodríguez Eraso. El presente manual integra los procedimientos básicos para el montaje de la prueba de Citología , tomando como referencia la condiciones propias del laboratorio de la clínica veterinaria “Carlos Martínez Hoyos” de la Universidad de Nariño y contiene los procedimientos básicos para el apropiado montaje de el ensayo de diagnostico. Detalla en forma lógica, ordenada y sistemática las principales técnicas básicas del laboratorio de Citología ótica, Citología Vaginal, Citología de masas, Citología de Líquidos y conjuntival para las especies animales que se remiten a este laboratorio.

Su contenido es de fácil comprensión para el personal adscrito al área de laboratorio de la clínica veterinaria así como para estudiantes del programa de Medicina Veterinaria de la Universidad de Nariño.

El manual contiene los valores de referencia utilizados por el laboratorio y describe las técnicas para el montaje y lectura de Citologías.

OBJETIVOS

1. Establecer los procedimientos básicos para el montaje de citologías Vaginal, Citología de masas, Citología de Líquidos y conjuntival en las diferentes especies veterinarias.
2. Dotar al laboratorio de la Clínica Veterinaria de la Universidad de Nariño un elemento indispensable para el control de calidad, así como una guía de apoyo académico para los estudiantes del programa de la universidad de Nariño.
3. Determinar las diferentes técnicas utilizadas en el montaje de los exámenes de citología.

6.5. PROCEDIMIENTO PARA CITOLOGIA

a. AREAS DE APLICACION

La aplicación del manual de procedimientos en Citología sirve para estandarizar los procedimientos dentro del laboratorio de la clínica veterinaria de la Universidad de Nariño, es además un referente para otros laboratorios de diagnóstico veterinario en la región y otros departamentos y para que sea de utilidad al personal técnico y profesional del laboratorio clínico.

Es útil como herramienta académica para estudiantes de pregrado, profesores del programa y demás profesionales interesados en el área de laboratorio clínico veterinario.

b. ALCANCE DE LOS PROCEDIMIENTOS

Los procedimientos pueden ser aplicados a las diferentes especies domesticas como lo son: caninos, felinos, ovinos, porcinos, bovinos, equinos y aves.

c. RESPONSABLES

4. El director de la clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos”.
5. El director científico del laboratorio de la Clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos”.
6. El personal técnico y profesional del laboratorio de la clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos”.

d. CONCEPTOS

Exfoliación Celular: este es el término cosmético para indicar la eliminación de las células muertas de la capa córnea.

IMPRONTAS: se pueden tomar a pacientes con lesiones externas que pueden estar o no ulceradas, cuando la lesión esta ulcerada se debe tomar muestras antes de la limpieza y otra después. Las improntas se pueden tomar de masa extirpadas quirúrgicamente o durante necropsias. La desventaja de la muestra por impronta es que se obtienen muchas células inflamatorias que van a influir directamente, enmascarando la verdadera severidad del diagnóstico.

Edema: acumulación de líquidos en una cavidad

e. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO.

6.5.1 Citología. El estudio de las células para diagnóstico de enfermedades implica no solo aquellas células que se descaman o se exfolian espontáneamente, sino también las obtenidas de órganos que normalmente no producen células libres.

6.5.1.1 Principio. El continuo crecimiento de los epitelios tiene como consecuencia la producción de células exfoliativas, que a veces se acumulan en diversas cavidades, de las que pueden ser obtenidas para su estudio citológico.

Además del material descamado espontáneamente, es posible el estudio de células obtenidas por un ligero raspado o lavado. Para estudios de diagnóstico pueden obtenerse células de casi todas las partes del cuerpo mediante el uso de instrumentos especiales y de varias enzimas.

6.5.1.2 Equipos y materiales:

- Microscopio
- Portaobjetos

6.5.1.3 Reactivos:

- Colorante de Wright.
- Colorante de Giemsa.
- Tinción de Gram.

6.5.1.4 Material biológico:

- Citología otica: impronta de contenido otico.
- Citología conjuntival: impronta de contenido conjuntival.
- Citología vaginal: impronta de epitelio vaginal.
- Citología prepucial: impronta de epitelio prepucio.
- Citología de masas: impronta o aspirado de la masa.

6.5.1.5 Procedimiento:

- Dejar secar las láminas al medio ambiente por 10 minutos.
- Realizar las tinciones:
 - ✓ Colorante de Wright:
 - Agregar colorante de Wright por 3 minutos y 30 segundos.

- Agregar Buffer de Wright por 3 minutos y 30 segundos.
- Dejar secar las láminas al medio ambiente.
- Observar al microscopio a 10X, 40X y 100X.
- ✓ Colorante de Giemsa:
 - Fijar la placa con METANOL por 3 minutos.
 - Dejar secar al medio ambiente.
 - Adicionar el colorante de GIEMSA a la placa por 10 minutos.
 - Lavar con agua corriente y dejar secar al medio ambiente.
 - Observar al microscopio a 100X.
- ✓ Tinción de Gram:
 - Agregar a la placa CRISTAL VIOLETA y dejar por 1 minuto.
 - Lavar con agua destilada.
 - Agregar LUGOL DE GRAM y dejar por 2 minutos.
 - Lavar con agua destilada
 - Agregar ALCOHOL ACETONA y dejar por 30 segundos.
 - Lavar con agua destilada.
 - Agregar SAFRANINA y dejar por 20 segundos.
 - Lavar con agua.
 - Dejar secar al medio ambiente.
 - Observar en el microscopio a 40X y 100X.

6.5.1.6 Cálculo de resultados: determinación de tipo cualitativa. Se observa cambios citológicos, de membrana, presencia o ausencia de hongos o bacterias, reacciones inflamatorias. Además se debe tener en cuenta el conocimiento de las células normales que se originan de una fuente dada. Se hace una evaluación general de la placa y se determina el grado de alteración de la muestra.

6.5.2 Citología de Líquidos. En circunstancias normales, todas las cavidades serosas y espacios tisulares contienen una pequeña cantidad de líquido, que es esencialmente un filtrado de sangre con poca proteína. Esos líquidos no llaman la atención hasta que se acumulan en volumen excesivo. Cuando esto sucede, los líquidos son aspirados o de otras maneras colectadas con los que se hace pruebas químicas o físicas en la citología de líquidos.

6.5.2.1 Principio. La acumulación de líquido, ya sea en una cavidad corporal o como edema, es debida a un trastorno físico-químico que puede ser el resultado de un aumento en la presión de los capilares venosos y la consiguiente mayor permeabilidad. Estos líquidos según su origen mantienen composiciones que pueden ser determinadas de diferentes maneras con pruebas de laboratorio.

6.5.2.2 Equipos y materiales.

- Tiras reactivas multistix 10 SG
- Refractómetro.
- Microscopio.
- Laminillas.
- Tubos de ensayo.

6.5.2.3 Material biológico:

- Líquidos tomados por aspiración o colectados.

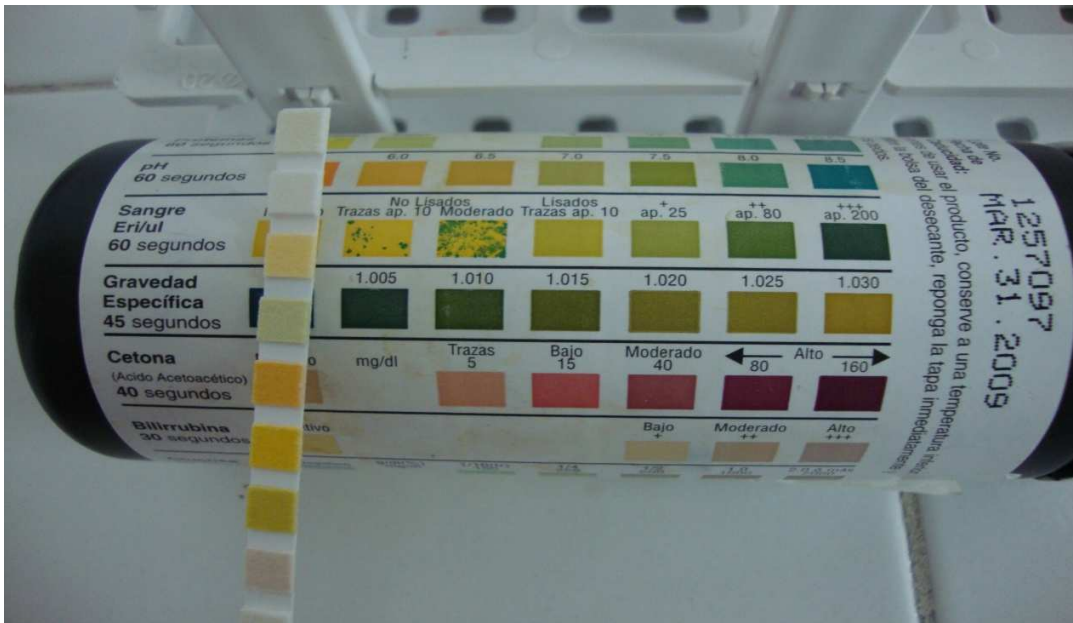
6.5.2.4 Procedimiento:

6.5.2.4.1 Examen físico del líquido. Se vierte la muestra del líquido sobre un tubo de ensayo se la observa a contraluz para determinar el aspecto y el color.

6.5.2.4.2 Cálculo de resultados: determinación cualitativa

6.5.2.4.3 Examen químico del líquido:

- Se toma una tira de MULTISTIX 10 SG y se empapa en el líquido que está en el tubo de ensayo; se retira y se deja reposar por 2 minutos sobre una superficie plana.
- Se hace una valoración comparativa con los rangos que aparecen en el recipiente que trae las tirillas como aparece en la siguiente figura.




CALCULO DE RESULTADOS: DETERMINACION CUALITATIVA

6.5.2.4.4 Valores de referencia:

- EXUDADO:
 - Aspecto: Diáfano, seroso, de color pajizo.
 - Densidad: Menor de 1.018.
 - Contenido de proteínas: Menor de 3 g por 100mL.
 - Coagulación: No se coagula, o solo débilmente.
 - Células: Pocas: endoteliales, linfocitos y eritrocitos.
 - Bacterias: Ausentes.

- TRASUDADOS:
 - Aspecto: Diáfano, turbio, purulento.
 - Densidad: Mayor de 1.018
 - Contenido de proteínas: por lo general mayor de 3 g por 100mL.
 - Coagulación: se coagula espontáneamente.
 - Células: Muchos Neutrófilos, linfocitos o Eosinófilos; algunos eritrocitos.
 - Bacterias: por lo general presentes.

6.5.3 Formulario de Impresos

 Universidad de Nariño	CLINICA VETERINARIA CARLOS MARTINEZ HOYOS CENTRO DIAGNOSTICO VETERINARIO REPORTE DE LABORATORIO RESULTADO PRUEBAS DIAGNOSTICAS	Código: CVE-PRS-FR-04
		Página: 1 de 1
		Versión : 1
		Vigente a Partir de 01/10/2008

PROPIETARIO :
 NOMBRE PACIENTE :
 ESPECIE :
 MEDICO SOLICITANTE :

FECHA DE RECEPCION:
 FECHA DE ENTREGA:

ANALISIS SOLICITADO:	
1. CITOLOGIA:	
RESULTADO:	
COLOR:	
ASPECTO:	
LEUCOCITOS:	
NITRITOS:	
UROBILINOGENO:	
PROTEINAS:	
PH:	
SANGRE:	
DENSIDAD (Refractómetro):	
BILIRRUBINA:	
GLUCOSA:	
CETONA:	
**EXAMEN DEL SEDIMENTO:	
*RECUESTO DE LEUCOCITOS:	
**RECUESTO DIFERENCIAL WRIGHT:	

OBSERVACIONES:

NOTA :

Los resultados solo son validos para la muestra procesada

LABORATORIO CLINICO VETERINARIO

lcudenar@gmail.com

6.5.4 Bibliografía:

COWELL, Rick L. Diagnóstico Citológico y Hematológico del Perro y el Gato. Barcelona. Elsevier, 2009.474P.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 CONCLUSIONES

Los requerimientos de calidad en laboratorios exigen una serie de condiciones de tipo logístico, en infraestructura, personal administrativo y profesional que garanticen la aplicación cabal de los diferentes ítems de calidad establecidos nacional e internacionalmente; dentro de estas exigencias están la de homogenizar al máximo las operaciones dentro de cada una de las áreas que se quieren mejorar, en esto los manuales de procedimientos juegan un papel importante.

La realidad nacional en cuanto a controles de calidad demuestran que ni siquiera el organismo regulador cumple a cabalidad con las exigencias que demanda una calidad, de esa forma los laboratorios de diagnóstico del país sufren por inercia de este mismo mal.

Cada manual de procedimientos debe elaborarse de acuerdo a las realidades materiales y económicas que se poseen; de ahí que de un laboratorio a otro las diferencias sean abismales en cuanto a las técnicas y procedimientos establecidos. Los principios de la elaboración de manuales también nos brinda cierta libertad a la hora de su fabricación, libertad que a la postre se transforma en el sello de cada uno de los laboratorios.

En cuanto a las técnicas utilizadas en las diferentes pruebas de diagnóstico podemos concluir que en su totalidad y para cada área se rigen con los mismos principios y que las modificaciones o adaptaciones obedecen a la condición económica de cada laboratorio.

Los manuales además de cumplir el requisito de ley exigido en cada unidad administrativa, se convierten en una herramienta de tipo académica para el personal docente y los estudiantes de la universidad de Nariño, cumpliendo de esta manera la función académica que le corresponde a la clínica veterinaria de nuestra universidad.

El carácter del laboratorio de la clínica veterinaria de la universidad de Nariño hace que seamos especialmente atentos en la producción de materiales de manejo de laboratorios de diagnóstico, por cuanto corresponde a la universidad generar los espacios adecuados para la investigación que sirva como proyección social y ayude a interpretar los problemas que atraviesa la sociedad.

Este trabajo da un primer paso en la construcción de manuales de procedimientos, sin embargo queda largo trecho por recorrer. Es así como lo inmediato a seguir es la elaboración de los manuales de toma de muestras, transporte de muestras, de otras pruebas que se realizan en el laboratorio; y posteriormente la estandarización de cada una de las técnicas para la posterior elaboración de investigaciones que den con el establecimiento de valores de referencia propios de nuestro laboratorio.

Otra de las ventajas de la elaboración de estos manuales es que tenemos bien establecidos los valores de referencia que utiliza este laboratorio, con su fuente bien ubicada es fácil para los docentes, estudiantes y profesionales del área médico veterinaria poder orientar sus interpretaciones de los resultados que emite este laboratorio.

Aunque hoy tengamos muchas deficiencias podemos afirmar que el laboratorio de la clínica veterinaria esta a la vanguardia de los laboratorios de la región, estos manuales, la infraestructura, su función académica, los formatos de entrega de resultados, la pertinencia en el servicio así lo demuestran.

7.2 RECOMENDACIONES

Se deben realizar los manuales de procedimientos en bioseguridad que contemple aspectos como los siguientes:

- Señalización internacional de riesgo biológico
- Método utilizado para pipeteo
- Limpieza y desinfección de pisos, superficies y material de laboratorio.
- Concepciones generales de instalación de laboratorios
- Materiales de laboratorio
- Vigilancia médica y sanitaria
- Formación profesional
- Descontaminación y eliminación de desechos
- Seguridad química, eléctrica y radiológica, protección contra incendios.

VER ANEXO E

Se deben realizar los manuales de procedimientos en la toma de muestras que contemple los siguientes aspectos:

- Sitios para la toma de muestras
- Almacenamiento de muestras

- Transporte de muestras

Con los manuales instaurados la dirección científica del laboratorio debe empezar un proceso ordenado para la estandarización de las técnicas en las diferentes pruebas, determinar el margen de error en cada caso. También debe empeñar esfuerzos en comparar las técnicas utilizadas por el laboratorio con otros de renombre nacional y de otros centros educativos del país.

Capacitación al personal de laboratorio en las técnicas que definen los manuales de laboratorios realizados hasta el momento y en normas mínimas de bioseguridad.

BIBLIOGRAFIA

BURTIS A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.

CENTRO NACIONAL DE SANIDAD AGROPECUARIA. Manual de técnicas Parasitológicas. Ciudad de la Habana.1987.

COWELL. Rick L. Diagnóstico Citológico y Hematológico del Perro y el Gato. Barcelona. Elsevier, 2009.474P.

DOUMAS BT Clin Chem. 1971: Acta 31: 87-96.

FISHER Maggie y MCGARRY, John. Fundamentos de Parasitología en Animales de Compañía (2007)

GENDLER S. Uric acid. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1268-1273 and 425.

HAWKWY, C.M., Denfnet, T. B. – Hematología Veterinaria Comparada. Grass. 1989. Schalm, O.W. – Hematología Veterinaria. México; (1964).

ICA. Manual de técnicas del programa de parasitología y entomología veterinaria.Colombia.1979.

_____. Resolución 001599. 2007. 4p.

ISO 17025. Calidad de Laboratorios. NTC : 2002, 33p.

MURRAY R.L. Creatinine. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1261-1266 and 418.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. Segunda Edición. Ginebra, 1994.

RODKEY F L. Clin Chem 1965; 11: 478-487.

RUDOLPH, W; VILLOUTA, G. Manual de Hematología Clínica Veterinaria.Vol.2. U de Chile. 2003.

SOCIEDAD COLOMBIANA DE PATOLOGIA CLINICA. Listado de Estudios para Laboratorio.1 edición. Colombia.

TIETZ N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

VELES R. Adolfo. Guías en Parasitología Veterinaria. (1983)

WEBSTER D. Clin Chem. 1974: Acta 53: 109-115.

YOUNG DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.

NETGRAFÍA

DEL CAMPILLO. Migel. Parasitología veterinaria.1 edición, (jul.1999):p.982.
Disponible en: <http://www.agapea.com/libros/Parasitologia-veterinaria-isbn-8448602366-i.htm>

MEHLHORN H. Düvel D, RAETHER W. Manual de Parasitologia Veterinária. Ed Grass-latros. España, (1996): p.436. Disponible en:
<http://www.fcv.unlp.edu.ar/sitios-catedras /7/bibliografia.php>

[http://www.scribd.com/doc/1017962/Manual-de-Procedimientos-de-Laboratorio-Clinico-Veterinario-2.](http://www.scribd.com/doc/1017962/Manual-de-Procedimientos-de-Laboratorio-Clinico-Veterinario-2)

ANEXOS

Anexo A. Normas generales de bioseguridad en el laboratorio

- a.** La señal internacional de riesgo biológico debe colocarse en las puertas de los locales en donde se manipulan microorganismos biológicos.
- b.** En la zona del trabajo del laboratorio no se permitirá al personal comer, beber, fumar, guardar alimentos ni aplicar cosméticos.
- c.** No se deberá pasar la lengua por las etiquetas; los materiales no se colocaran en la boca.
- d.** Habrá que mantener el laboratorio limpio y aseado, retirando del mismo cualquier material que no tenga relación con el trabajo.
- e.** Las superficies de trabajo se descontaminaran al terminar la jornada laboral y en caso de derramamiento de sustancias potencialmente peligrosas.
- f.** Los miembros del personal se lavaran las manos después de haber manipulado material y animales infecciosos, así como al abandonar el laboratorio.
- g.** Todos los procedimientos técnicos se practicaran de manera que se reduzca al mínimo la formación de aerosoles y goticas.
- h.** Todos los materiales, muestras y cultivos contaminados se descontaminaran antes de eliminarlos o limpiarlos para su reutilización. Se introducirán en bolsas de plástico de cierre hermético, con código de color, para esterilizar en autoclave o incinerar fuera de Laboratorio.
- i.** En el laboratorio se deberá utilizar batas, uniformes u otras prendas apropiadas. Esta ropa no se llevará fuera del Laboratorio y se desinfectarán las prendas contaminadas por procedimientos apropiados.
- j.** Se debe llevar calzado apropiado.
- k.** La ropa de laboratorio protectora no se guardará en los mismos lockers que la ropa de la calle.
- l.** Siempre que sea necesario proteger los ojos y la cara de salpicaduras o impactos se utilizarán gafas de seguridad, tapabocas u otros dispositivos de seguridad-
- m.** Solo podrá ingresar a las instalaciones del laboratorio el personal autorizado y que conoce las normas mínimas de bioseguridad. Durante el trabajo las puertas de acceso deberán mantenerse cerradas, queda prohibido el ingreso de niños.
- n.** Deberá haber un programa de lucha contra artrópodos y roedores.
- o.** No se permitirá la entrada en el laboratorio de animales que no tengan relación con los trabajos que se estén realizando.
- p.** Es obligatorio el uso de guantes, los cuales se deben quitar asépticamente y esterilizar en autoclave antes de proceder a su eliminación, o depositarse directamente en bolsa roja para su incineración. Después de quitarse los guantes se deberá lavar y desinfectar adecuadamente las manos. Los guantes reutilizables deben lavarse mientras están puestos y después de quitarlos, procediendo a su limpieza y desinfección antes de volverlos a utilizar.

- q. Todos los derramamientos, accidentes y exposiciones reales o potenciales a material infeccioso se notificarán inmediatamente al director del Laboratorio. Habrá que llevar un protocolo escrito de tales accidentes e incidentes.
- r. El director del laboratorio se ocupará de la capacitación en bioseguridad de todo el personal que labore en estas áreas. Habrá que adoptar un manual de seguridad o de operaciones en el que se identifiquen los riesgos actuales o potenciales y se indiquen las prácticas y procedimientos adecuados para reducir al mínimo o eliminar tales riesgos. Al personal se le informará sobre la existencia de riesgos especiales y se le pedirá que lea y observe las instrucciones sobre las prácticas y los procedimientos establecidos. El director se cerciorará de que el personal los comprende.