

Obtención de muestras de sangre y suero para la realización de análisis serológicos en aves



Mario A. Soria* (A) y Dante J. Bueno (A, B)

(A) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria EEA Concepción del Uruguay, Ruta Provincial 39 Km 143,5, 3260, Concepción del Uruguay, Entre Ríos, Argentina;

(B) Facultad de Ciencia y Tecnología, sede Basavilbaso, Universidad Autónoma de Entre Ríos, Barón Hirsch Nº 175, 3170, Basavilbaso, Entre Ríos, Argentina.

*Correo electrónico: soria.mario@inta.gob.ar

1. Introducción

En todo laboratorio clínico, la calidad de un examen empieza con la calidad de la muestra. El de hematología no es la excepción, por lo que resulta fundamental conocer la metodología correcta para la obtención de las muestras, así como las ventajas, las desventajas y las indicaciones. En general, se utiliza la punción venosa, siendo que todo el material que se use para obtener las muestras debe ser estéril y desechable (Domínguez y col., s/a). En este caso, el objetivo es la obtención de información sobre el estado de salud de un animal. Esta información puede utilizarse, en especial, para establecer un diagnóstico, evaluar una evolución y/o pronóstico de una enfermedad. Se pueden utilizar tres tipos de muestras de sangre para pruebas de diagnóstico: sangre completa, plasma y suero (Aznar y col., 2009, Morishita, 2019).

Las muestras de sangre completa son utilizadas para examinar, mediante microscopía, el estado de los eritrocitos (glóbulos rojos), leucocitos (glóbulos blancos) y trombocitos (plaquetas en los mamíferos). Las muestras de plasma y/o suero se utilizan para obtener información del perfil químico de la sangre del ave, mientras que las muestras de suero son las utilizadas para obtener información de los títulos de anticuerpos presentes para determinar la exposición de las aves a agentes patógenos. Por ello, a partir de las muestras de sangre se realizan pruebas de diferente índole: bioquímicas, hematológicas y/o inmunológicas (Aznar y col., 2009, Morishita, 2019). En la clínica de las aves, cuando se trata de estudiar algún problema que afecte a una granja de pollos parrilleros, aves de posturas o de reproductoras, se requiere de un muestreo que permita obtener un panorama más definido del problema presente en la granja (Charles, 2003).

El volumen de sangre extraído de un animal normalmente será determinado por el protocolo que, a su vez, dependerá de aspectos tales como la sensibilidad de las pruebas que se utilizarán (Morton y col., 1993). Las aves de corral tienen un porcentaje relativamente pequeño de volumen de sangre por peso corporal, aproximadamente del 6 al 7,5 %. Sin embargo, reemplazan la sangre a un ritmo ligeramente más rápido que los mamíferos, ya que los glóbulos rojos de las aves tienen una vida útil promedio de 28 a 35 días. Por ello, no se debe extraer más del 1% del equivalente en peso corporal de sangre en una sola extracción, y se debe permitir que el ave se recupere al menos 14 días antes de extraer más sangre. (Kelly y Alworth, 2013).

2. Procedimiento y sitios de punción

La colocación y el manejo de las aves para la extracción sanguínea son quizás las habilidades más importantes que se deben dominar. La maniobra es preferible que sea realizada por 2 personas; una puede sujetar al ave mientras la otra recoge la muestra. Sin embargo, con algo de práctica, una sola persona puede realizar con éxito la punción venosa en las aves. Debido a que las gallinas se asustan fácilmente, se deben evitar los movimientos bruscos y los ruidos fuertes al trabajar con ellas (Kelly y Alworth, 2013). Las venas son, en general, fácilmente palpables. Un minucioso examen visual acompañado de una palpación cuidadosa proporciona datos sobre la constitución y el tipo de vena, así como sobre su localización y dirección (Aznar y col., 2024).

2.1. Materiales utilizados en la toma de muestra de sangre

Para la recolección de pueden utilizarse jeringas y agujas de diferentes calibres (Figura 1 A y B) y posteriormente ser trasvasada la muestra a recipientes de diferentes capacidades, con o sin anticoagulante (Figura 1 C).

En primer lugar, se debe determinar el tamaño de la jeringa dependiendo del volumen de sangre que se necesita y de la vena seleccionada. Los grandes volúmenes de sangre no deben ser extraídos con agujas de pequeño calibre. Una de las causas de que se hemolice la muestra se debe al uso de agujas de bajo calibre acopladas a jeringas de alto volumen (Pereira, 2020).



A



B



C

Figura 1. A: Agujas de diferentes calibres. B: Jeringa con y sin aguja. C: Microtubos tipo eppendorf

2.2. Sitios de punción

Se puede extraer sangre de 3 sitios en las aves: vena braquial (conocida también como vena del ala, vena cubital cutánea o braquial), vena yugular y del corazón. El volumen de sangre que se puede recolectar de cada sitio dependerá del peso del ave, la habilidad de la persona encargada de realizar la extracción y de la velocidad de coagulación de la sangre. Normalmente, se extrae un volumen de 2 a 3 ml de sangre para obtener entre 1,0 y 1,5 ml de suero.

I.Vena yugular:

La vena yugular se encuentra en el lado derecho del cuello de las aves. Este sitio permite una recolección más rápida de mayores volúmenes de sangre, pero posee la desventaja que es una vena muy móvil y hay una gran cantidad de espacio subcutáneo, lo que hace que el sitio sea propenso a la formación de hematomas. El ave se coloca en decúbito lateral izquierdo, con las patas y alas suavemente sujetas. La cabeza del ave se separa suavemente del cuerpo para enderezar y alargar el cuello para permitir la visualización de la vena yugular en el tracto sin plumas (Kelly y Alworth, 2013).

I.Vena alar:

La vena del ala es el sitio más común para la recolección de sangre en las aves. Se puede acceder a esta vena en la parte inferior del ala del ave, cerca del codo, y se pueden arrancar plumas de esta área para ayudar en la visualización. La vena del ala corre entre los músculos bíceps y tríceps y se bifurca justo proximal al codo, lugar en donde se realizará la recolección de sangre. Como se muestra en la Figura 2, para la punción el ave se coloca en decúbito lateral, se deben levantar y estirar suavemente el ala superior para exponer la vena de la parte inferior (Kelly y Alworth, 2013).



Figura 2. Pasos en la extracción de sangre de la vena alar.

I. Corazón:

Para la obtención de sangre por punción cardíaca se debe realizar la contención del ave immobilizando sus patas y alas con una de las manos y punzar en el medio de la “región de la quilla” (base del esternón), donde hay un “vacío”, cuidando de no alcanzar el pulmón. Introducir la jeringa con la aguja en el pecho del ave de forma perpendicular al punto de entrada y paralelo a la columna vertebral, hasta alcanzar el corazón. Tirar lentamente del émbolo hasta obtener la cantidad deseada (OPS-OMS, 2017). Por otro lado, se puede perforar el corazón para recolectar grandes volúmenes de sangre en aves anestesiadas que no recuperarán el conocimiento después de la extracción de sangre. En este caso, el ave se coloca en decúbito lateral derecho y la aguja se inserta entre las costillas, perpendicular a la piel. La longitud de la aguja necesaria para llegar al corazón dependerá del tamaño de cada ave (Kelly y Alworth, 2013).

2.3. Manejo de la muestra de sangre

Al finalizar la toma de muestra de sangre, se debe quitar la aguja del sitio de inyección y presionar la herida suavemente con un algodón limpio hasta que cese la hemorragia (aproximadamente 30 segundos). Luego, hay que transferir la sangre a los microtubos o tubos desde la jeringa, previo retiro de la aguja. Esta última se descarta en recipientes adecuados. Asegúrese que la sangre corra por un lado del microtubo de manera lenta para evitar hemólisis y coloque los mismos casi planos hasta que se forme el coágulo. Es aconsejable dejar las muestras que se expongan a temperatura ambiente de 20 a 38°C para facilitar la separación natural entre el suero y el coagulo, en el caso que no se utilice ninguna sustancia anticoagulante, hasta que el coagulo este formado. Esta posición maximiza la superficie del coágulo y, por tanto, la cantidad de suero obtenida. Una temperatura superior puede deteriorar la muestra y una inferior puede retrasar la formación del coágulo y reducir la cantidad de suero obtenida. Posteriormente, hay que mantener las muestras en refrigeración hasta la recogida del suero o su envío al laboratorio. Debe evitarse la agitación, la exposición a la luz solar directa y la congelación de la sangre coagulada, ya que pueden provocar la hemólisis del coágulo y, por tanto, el deterioro de la muestra.

Una muestra de suero de buena calidad debe ser clara y de color ligeramente amarillo. Luego se debe transportar las muestras al laboratorio en una conservadora con refrigerantes para mantener la temperatura a 4 °C. Lo ideal es enviar el suero, pero puede enviarse la de sangre coagulada si se evitan los movimientos bruscos y el envío se hace hasta 8 h tras la toma de muestras (Gómez Martínez y Tellez Peña, 2019). En el laboratorio, se separará el coágulo del suero, pasando este último a otro tubo. Allí se conservará el suero a 4 °C, como máximo 1 semana, o - 20 °C, según indique la técnica empleada.

Después de que el suero se haya separado del coágulo de sangre, se debe retirar el suero del tubo de coagulación y colocarlo en otro tubo (microtubo) o bien se puede eliminar el coágulo del tubo con un palito de madera (como un palillo de dientes), dejando únicamente el suero en el tubo y con cuidado para evitar la rotura del coagulo sanguíneo (Hy-Line, 2016).

Para el envío de las muestras de suero al laboratorio (Figura 3) tener en cuenta que las muestras cumplan las siguientes condiciones (Hy-Line, 2016):

- ? No tener menos de 0,25 ml de suero
- ? No presentar hemólisis excesiva (rojas)
- ? No presentar lipemia excesiva (grasa)
- ? No posea coágulos

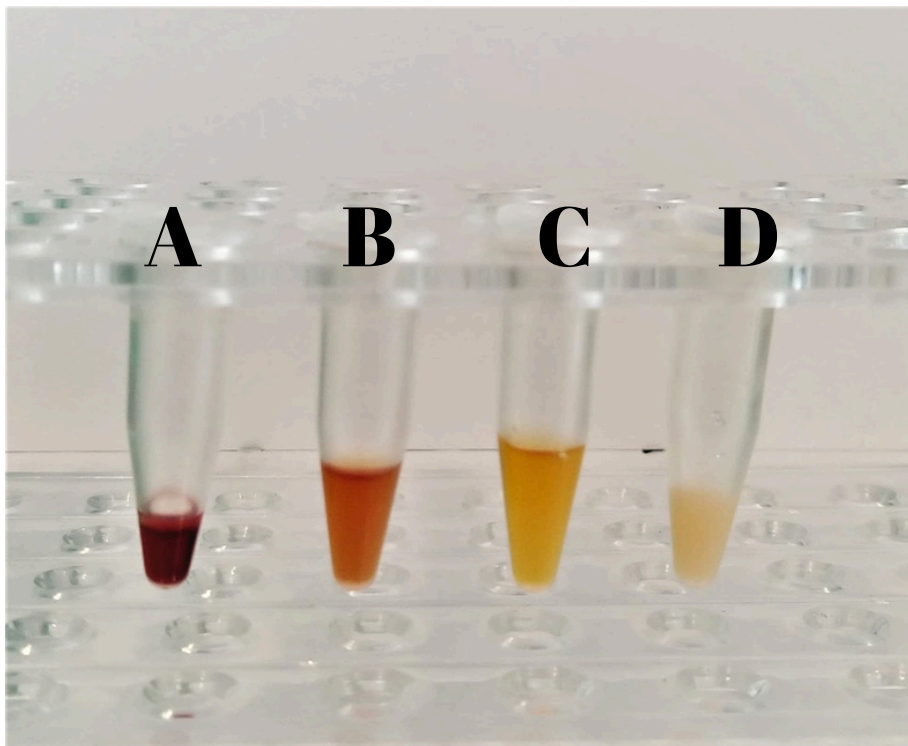


Figura 3. Diferentes tipos de muestras de suero: A) Hemolisis excesiva, B) Hemolisis leve, C) Suero normal, D) Suero lipémico.

3. Cuidados post-extracción

Todas las muestras deben considerarse como potencialmente infecciosas. Dentro de los diferentes tipos de muestras que pueden obtenerse de aves, las muestras de sangre presentan un riesgo biológico para el operador. Por ello, hay que utilizar siempre guantes cuando se extraiga y maneje muestras biológicas y lavarse bien las manos antes y después de su obtención (Aznar y col., 2009). Se debe ser cuidadoso en el manejo de muestras de sangre y tener presentes los siguientes puntos:

- ☐ La aguja se depositará en una unidad de recolección de residuos corto punzante sin su tapa.
- ☐ Las motas de algodón utilizadas para la desinfección y control para no salida de sangre después de la punción y capuchones de las agujas deben desecharse en bolsa roja.
- ☐ Los coágulos de sangre y microtubos con suero serán colocados en recipientes plásticos cerrados y luego sometidos a 121°C durante 30 minutos. Luego eliminados como residuos comunes. O bien sin tratamiento debe eliminarse como residuos biopatogénicos.
- ☐ Los tubos de vidrio con sueros se descartarán en recipientes con hipoclorito de sodio al 10 % de un producto de 55 g/l de hipoclorito. Se dejarán en contacto de 18 a 24 h a temperatura ambiente, luego se lavarán con agua de la canilla y posteriormente con agua destilada. Finalmente, se colocarán a secar en estufa a 60-80 °C para volver a utilizarse. La solución de hipoclorito de sodio será eliminada en la pileta haciendo correr agua de la canilla.

Referencias

Anonimo. Manual de recolección de muestras en animales.

www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/Self-declarations/Archives/Anexo_4._Manual_de_toma_y_remision_de_muestras.pdf (Acceso abril de 2024)

Aznar, J.; Nuñez Roldan, J.; de Haro Muñoz, T.; Justel, A.L. 2009. Manual de obtención y manejo de muestras para el laboratorio clínico. Servicio Andaluz de Salud.

Consejería de Salud. Junta de Andalucía, Sevilla, España.

https://sampac.es/images/site/documentacion/protocolos/otros/Manual_Obtencion_y_Manejo_Muestras_1.pdf (Acceso abril 2024).

Charles Noriega, M.L. 2003. Manual de hematología aviar. UNAM, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Domínguez, E. R.; Galán Zamora, R; Zamora Bello, I. 2020. Guía de laboratorio de hematología. Facultad de Química Farmacéutica Biológica. Universidad Veracruzana.

www.uv.mx/qfb/files/2020/09/Guia-de-Hematologia-Laboratorio.pdf (Acceso abril 2024).

Gómez Martínez, C, y S. Téllez Peña. 2019. Obtención de sangre y suero en aves. Albeitar 230: 24-26.

Hy-Line, 2016. Manera apropiada para recolectar y manejar las muestras para diagnósticos. Parte 1: serología y toma de muestras de sangre.

www.hyline.com/Upload/Resources/TU%20SER1%20SPN.pdf (Acceso abril 2024)

Kelly, L., Alworth, L. 2013. Techniques for collecting blood from the domestic chicken. Lab Anim 42, 359–361.

Morton, D.B., Abbot, D., Barclay, R., Close, B.S, Ewbank, R., Gask, D., Heath, M., Mattic, S., Poole, T., Seamer, J., Southee, J., Thompson, A., Trussel, B., West, C., y Jennings, M. 1993. Removal of blood from laboratory mammals and birds.

<https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1258/002367793781082412> (Acceso abril de 2024).

OPS-OMS. 2017. Manual veterinario de toma y envío de muestras: manual técnico. Cooperación Técnica MAPA/OPS/PANAFTOSA para el Fortalecimiento de los Programas de Salud Animal de Brasil. Rio de Janeiro: PANAFTOSA - OPS

/OMS. <https://iris.paho.org/handle/10665.2/34527> (Acceso abril de 2024).

Pereira Macareo, N. 2020. Elaboración de un Manual de Manejo y Toma de Muestras en Fauna Silvestre para la Reserva Natural Cabildo Verde en Sabana de Torres.

Bucaramanga: Universidad de Santander.

<https://repositorio.udes.edu.co/server/api/core/bitstreams/c3ad4d86-21e6-43a3-8807-64f895a61a4c/content> (Acceso abril 2024)