

RECOMANACIONS PER LA RECOLLIDA, CONSERVACIÓ I TRANSPORT DE LES MOSTRES.

RECOLLIDA I TRANSPORT:

És molt important que a l'hora de realitzar l'extracció de les mostres de sang hi hagi una compressió venosa poc prolongada, que l'animal estigui en dejú (per prevenir que la mostra estigui lipèmica) i que s'evitin les aspiracions i pressions forçades.

Les cèl·lules s'han de separar ràpidament del sèrum o plasma mitjançant centrifugació: per obtenir sèrum s'haurà de recollir la sang en tubs sense cap tipus d'anticoagulant, deixar coagular la sang durant aproximadament 10–15 minuts (en el cas dels cavalls s'ha de deixar més temps) i posteriorment centrifugar durant 10-15 minuts (30 minuts o inclús més en el cavall) a 3500 rpm, es recollirà el sobrenedant (sèrum) que es passarà a un tub eppendorf i es congelarà el més aviat possible. Per obtenir plasma es recollirà sang en tubs amb anticoagulants i es procedirà de la mateixa forma estalviant-se el temps de coagulació.

EN CAP CAS ES CONGELARÀ SANG TOTAL. S'HAN D'EVITAR EL TRANSPORT DE SANG TOTAL, LA CENTRIFUGACIÓ MASSA FORTA I ELS CANVIS BRUSCOS DE TEMPERATURA. LES MOSTRES S'HAN DE PROTEGIR DE LA LLUM (LA BILIRRUBINA ES SENSIBLE A LA LLUM).

Una vegada obtingudes les mostres (sèrum o plasma) s'hauran de fer arribar al *Servei de Bioquímica Clínica Veterinària (Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 – Bellaterra, Barcelona)* tenint en compte les següents consideracions:

- 1.- El volum de mostra haurà de ser suficient per poder realitzar totes les determinacions (consultar amb els responsables del Servei)
- 2.- Les mostres sempre hauran de venir degudament identificades per ordre correlatiu i col·locades de forma que s'evitin possibles vessaments, cops o ruptures.
- 3.- Durant el transport s'haurà de garantir que es mantinguin com a mínim refrigerades.
- 4.- El recipient exterior ha de resistir els cops que freqüentment es donen durant el transport.

El sèrum és el tipus de mostra recomanat per bioquímica, especialment per a la determinació d'enzims.

En cas necessari, l'anticoagulant d'elecció és la heparina de liti (veure interferències)

El fluorur/oxalat (inhibidor de la glucòlisis) s'utilitza en aquells casos que es vulgui determinar glucosa i no es pugui separar les cèl·lules del sèrum o plasma abans d'una hora.

INTERFERÈNCIES:

És molt important especificar, si es dona el cas, el tractament que està rebent l'animal, per tenir en compte possibles interferències amb la medicació.

S'haurà de tenir en comte les possibles interferències degudes als anticoagulants, per exemple:

- *Heparina*: és l'anticoagulant d'elecció perquè presenta un menor nombre d'interferències, encara que s'ha de tenir en compte que depenent de la sal d'heparina que s'utilitzi no podem determinar sodi, liti o amoni.

- *EDTA*: El seu efecte anticoagulant es basa en l'efecte quelant (segrestador) del calci. És també quelant d'altres ions divalents com el magnesi. Per tant, no podrem determinar en plasmes amb EDTA aquest tipus d'ions (calci o magnesi) ni enzims que requereixen d'aquest ions per la seva activitat (com per exemple, fosfatasa alcalina, amilasa o lipasa).

Mostres hemolítiques:

Succeeix quan els eritròcits es trenquen i part del seu contingut passa al sèrum o al plasma, les mostres presentaran una coloració vermella deguda a la presència d'hemoglobina.

L'hemòlisi pot ser deguda a una patologia o, en la major part dels casos, a un mal processament de la mostra.

Una mostra hemolítica ens pot donar les següents alteracions:

- Increment dels paràmetres que es troben en condicions normals a concentracions elevades dintre dels eritròcits: potassi, LDH i AST.
- Disminució de la concentració de glucosa.
- Apareix la banda corresponent a l'hemoglobina en el gel d'electroforesis (entre les α -globulines i les β -globulines)
- L'hemoglobina produeix una interferència negativa produint-se un decrement de l'activitat de la α -amilasa del 10% a concentracions d'hemoglobina de 6 g/L.

RECOMANACIONS PER L'OBTENCIÓ I CONSERVACIÓ DE LES MOSTRES PER DETERMINAR ENZIMS:

El sèrum és la mostra d'elecció utilitzada per la determinació d'enzims.

ASPARTAT-AMINOTRANSFERASA (AST):

És preferible utilitzar sèrum lliure d'hemòlisi. No es recomana utilitzar plasma. En absència de contaminació bacteriana l'AST es manté estable a 0-4°C durant 7 dies. Les mostres es poden congelar per conservar l'activitat enzimàtica durant més temps.

ALANINA-AMINOTRANSFERASA (ALT):

És preferible utilitzar sèrum lliure d'hemòlisi. No es recomana utilitzar plasma. En absència de contaminació bacteriana l'ALT es manté estable a 0-4°C durant 3 dies. Les mostres es poden congelar per conservar l'activitat enzimàtica durant més temps.

CREATINA QUINASA (CK):

És preferible utilitzar sèrum lliure d'hemòlisi (per minimitzar la interferència deguda a la adenilat-quinasa eritrocitària). No es recomana utilitzar plasma. L'exercici físic pot incrementar l'activitat de la CK, per tant s'ha d'evitar abans de l'extracció. L'estabilitat de la CK en sèrum depèn de la proporció d'isoenzims presents a la mostra:

CK-MM (CK 3 o muscular): 2 setmanes a 2-10°C

Les mostres es poden congelar per conservar l'activitat enzimàtica durant més temps.

L-LACTAT DESHIDROGENASA (LDH):

És preferible utilitzar sèrum lliure d'hemòlisi. El plasma, degut al seu contingut en plaquetes, presenta una concentració de LDH major que en sèrum.

Varis anticoagulants inhibeixen l'activitat catalítica de la LDH, com per exemple els oxalats i els fluorurs. Existeixen opinions diverses respecte a la influència de la heparina sobre l'activitat catalítica de la LDH. No es convenient la utilització de plasma recollit amb iodoacetat de liti.

Degut a l'alta concentració de la isoenzima 1 (múscul cardíac i ronyó) en els eritròcits, una separació del sèrum massa tardana, així com l'hemòlisi, donaran resultats elevats. L'isoenzim 5 (fetge, múscul esquelètic i diverses neoplàsies) és termolàbil, per això no es recomana congelar els sèrums per una determinació posterior.

La concentració catalítica de LDH total es manté estable durant 24 hores a temperatura ambient, després d'aquest temps es detecten pèrdues significatives de l'activitat, tant conservant la mostra refrigerada com a temperatura ambient.

GAMMA-GLUTAMILTRANSFERASA (GGT):

És preferible utilitzar sèrum lliure d'hemòlisi. No s'aconsella la utilització de plasma ja que els anticoagulants interfereixen o originen problemes de terbolesa. La GGT manté la seva activitat en sèrum durant al menys 5 dies a 4°C o durant al menys 9 mesos quant es conserva a -80°C.

Diferents fàrmacs com el fenobarbital, la difenilhidantoïna, barbiturats, contraceptius orals i tolbutamida, indueixen la síntesis hepàtica de l'enzim incrementant les concentracions sèriques.

FOSFATASA ALCALINA (ALP):

És preferible utilitzar sèrum lliure d'hemòlisi. No s'han d'utilitzar mai anticoagulants quelants com oxalat, citrat i EDTA, però es acceptable utilitzar plasma amb heparina. Les mostres es poden conservar fins a 5 dies refrigerades, per períodes més llargs les mostres es poden congelar, deixant l'espècimen 1 hora a temperatura ambient després de descongelar i abans d'analitzar.

Diversos medicaments poden donar interferències analítiques. L'aminofilina i la teofilina produeixen disminució de la concentració catalítica de la fosfatasa alcalina. De forma habitual es presenta interferència biològica amb un ampli grup de medicaments que produeixen hepatotoxicitat, augmentant per tant els nivells sèrics de l'enzim.

α -AMILASA:

És preferible utilitzar sèrum lliure d'hemòlisi. No s'han d'utilitzar mai anticoagulants quelants com oxalat, citrat i EDTA, encara que es pot fer servir heparina. La α -amilasa manté la seva activitat en sèrum durant com a mínim durant una setmana a temperatura ambient i 2 mesos quan es conserva a 4°C.

LIPASA:

És preferible utilitzar sèrum lliure d'hemòlisi. Només es pot fer servir plasma amb heparina. La lipasa es manté estable durant 7 dies a 4°C, per períodes més llargs es pot conservar congelada.

Es recomana consultar el llistat de Young et al. per consultar les interferències dels medicaments a l'hora de determinar la concentració catalítica dels enzims: Young GS, Pestane LC, Gibberman Y. Effects of drugs on clinical laboratory test. Clin Chem 1975;21:1D-432D.

RECOMANACIONS PER L'OBTENCIÓ I CONSERVACIÓ DE LES MOSTRES PER DETERMINAR HORMONES:

En general es recomana fer servir tubs de vidre, sense cap tipus d'anticoagulant, per l'extracció de les mostres i mantenir el sèrum congelat en tubs eppendorfs de polipropilè.

Especificant per les hormones més comunes:

- Cortisol: sèrum o plasma amb heparina.
- Estradiol: sèrum.
- Insulina: sèrum o plasma amb heparina (el EDTA produeix resultats més elevats)
- IGF-I: sèrum, plasma amb heparina o amb EDTA.
- Progesterona: sèrum , plasma amb heparina o amb EDTA.

RECOMANACIONS PELS PRINCIPALS METABOLITS I PROTEÏNES DE FASE AGUDA:

	Sèrum	Plasma amb heparina	Plasma amb EDTA	Plasma amb oxalat potàssic o fluorur sòdic
Haptoglobina	x			
SAA	x	x		
Àc.biliars	x		x	
Àc.grassos lliures	x		x	
Àc. úric	x	x	x	
Bilirrubina directa	x	x	x	x
Bilirrubina total	x	x	x	
Calci	x	x		
Clorurs	x	x		
Colesterol	x	x	x	
Creatinina	x	x	x	
D-3- Hydroxybutyrate	x	x	x	
Fòsfor	x	x		
Glucosa	x	x	x	
Lactat				x
Magnesi	x	x		
Potassi	x	x		
Proteïnes totals	x	x	x	
Sodi	x	x		
Triglicèrids	x	x	x	
Urea	x	x	x	