

# MANUAL DE QUIMICA SANGUINEA VETERINARIA

Trabajo realizado por: WILDEMAN ZAPATA BUILES HOLTMAN DEIVER FAJARDO RINCON

#### INTRODUCCION

En los últimos años ha aumentado considerablemente el interés de la aplicación de los análisis clínicos veterinarios en el diagnostico de patologías en animales. El área de Química sanguínea tiene gran importancia en esta aplicación porque ofrece información adicional al veterinario para realizar un diagnóstico más preciso que conducirá al tratamiento específico, es decir, al tratamiento de la causa determinante de la enfermedad, en lugar de un tratamiento exclusivamente de los síntomas de ésta.

Actualmente existe un gran número de pruebas Bioquímicas especialmente útiles en los estudios clínicos, y es claro que el mayor crecimiento y el mayor reto en patología clínica serán del área de la química. Por ejemplo cada año aumenta el número de enzimas mensurables que sabemos se alteran en las enfermedades y cuyos cambios pueden ser aplicados en el diagnóstico. En la miopatía nutricional de los bovinos y ovejas, el único criterio fiel que indica la presencia y extensión de la enfermedad es el nivel elevado de la transaminasa glutámica oxalacetica. Los valores fuera de lo normal de otras enzimas séricas también son de valor en el diagnóstico y determinación de la cuantía del daño en el hígado, páncreas, huesos y otros órganos y sistemas.

El sodio y el potasio séricos, junto con alteraciones del equilibrio acido-base pueden ser determinados con precisión y rapidez suficiente para influir en el tratamiento de un paciente. La pericia técnica y los instrumentos necesarios para algunas de estas determinaciones están aumentando en complejidad y por esta razón algunos valiosos medios de diagnóstico tardan en alcanzar uso práctico.

El presente manual pretende ofrecer al Bacteriólogo una guía de técnicas y procedimientos de Química sanguínea que se realizan en el Laboratorio Clínico Veterinario para lograr así resultados más óptimos y confiables.

Para lo anterior se plantean una serie de pasos a seguir desde la toma de la muestra, pasando por las determinaciones químicas hasta la obtención de los resultados.

EL LABORATORIO DE LA REGION



# TABLA DE CONTENIDO

- 1. TOMA DE MUESTRA
  - 1.1. MATERIALES
  - 1.2. PREPARACION DEL SITIO DE PUNCION
  - 1.3. PUNCION Y SITIOS DE PUNCION
- 2. TRANSPORTE DE LA MUESTRA
- 3. MANEJO DE LA MUESTRA
  - 3.1. PLASMA
  - 3.2. SUERO
  - 3.3. CONSERVACION DE LA MUESTRA
- 4. EQUIPO "AMES QUIK LAB"
  - 4.1. CARACTERISTICAS DEL EQUIPO "AMES QUIK LAB"
  - 4.2. OPERACIONES DE ENCENDIDO
- 5. DETERMINACIONES BIOQUIMICAS
  - 5.1. GLUCOSA
  - 5.2. COLESTEROL TOTAL
  - 5.3. UREA
  - 5.4. CREATINININA
  - 5.5. ACIDO URICO
  - 5.6. PROTEINAS TOTALES
  - 5.7. ALBUMINA
  - 5.8. TRANSAMINASA GLUTAMICA PIRUVICA (GPT)
  - 5.9. TRANSAMINASA GLUTAMICA OXALACETICA (GOT)
  - 5.10. FOSFATASA ALCALINA (ALP)
  - 5.11. BILIRRUBINA TOTAL Y DIRECTA
- 6. VALORES DE REFERENCIA

# 1. TOMA DE MUESTRA

#### 1.1. MATERIALES

Tijeras, bisturí, algodón, gasa, solución yodada, alcohol, agujas, jeringas, vacutainer, tubos secos, tubos con anticoagulante (EDTA), bolsas para descartar material contaminado.

# 1.2. PREPARACION DEL SITIO DE PUNCIÓN

La posición adecuada y sujeción efectiva del animal son esenciales para un muestreo con éxito. Un poco de tiempo empleado haciendo amigos, ganando la confianza del animal, son generalmente bien recompensados. La práctica apacible y suave deberá minimizar la necesidad de manejo físico humano.

# EL LABORATORIO DE LA REGION

Web: www.microclin.com e-mail: microclin@microclin.com



No solo deben ser minimizados los trastornos físicos y psíquicos sobre bases humanitarias, sino también porque la sangre tomada de un animal asustado, adrenalizado, puede originar resultados equivocados en varios análisis, por ejemplo, la glucosa y los ácidos grasos no esterificados.

El sitio de punción debe estar limpio y libre de patógenos, esto incluye recortar el pelo, lavarlo con jabón, detergente o solución yodada en dos veces y después realizar una limpieza con alcohol. El corte de pelo puede ser indeseable en animales de exhibición por lo que es necesario pedir el consentimiento del dueño, en caso que el corte no sea posible por algún motivo la limpieza debe ser más estricta. La asepsia debe realizarse en sentido contrario al crecimiento del pelo del animal y en forma circular del centro hacia la periferia. Después de la punción el sitio debe dejarse seco, limpio y libre de sangre ya que cualquier humedad o materia orgánica favorece las infecciones.

# 1.3. PUNCION Y SITIOS DE PUNCION

La sangre venosa es la muestra más común obtenida de los animales. Las técnicas varían de una especie a otra, según la localización de los vasos sanguíneos convenientes y el espesor, dureza y capa de la piel.

#### **BOVINOS**

La sangre es obtenida de las venas yugular, mamaria (abdominal subcutánea) y caudales y de las arterias carótida, caudal y braquiales.

La vena yugular puede ser destacada presionando con los dedos el canal yugular o usando un cordón. El vaso prominente se ve bien en la mayoría de las vacas lecheras y se palpa fácilmente en los animales obesos. Tiene aproximadamente 2 cm de diámetro. Se introduce en la vena una aguja larga calibre 14 y de 5 cm de longitud, o calibre 16 y 10 cm de longitud.

La acertada penetración en el vaso se evidencia al brotar la sangre. otra opción es introducir una aguja más fina (cal.18 de 38 mm.) en ángulo de 45° con la piel a lo largo de la vena. Este procedimiento es más fácil con la aguja insertada en una jeringa.

Luego de haberse introducido la aguja se hace un poco de succión con la jeringa, si ésta entro en el vaso la sangre aparecerá en la jeringa. Puede ocurrir que la aguja atraviese la vena y que la punta quede fuera del vaso, entonces, retirando la aguja lentamente se llevará la punta dentro de la luz de éste. Extraída la sangre, se quita la presión sobre la vena y se aplica presión manual sobre la punción antes de sacar la aguja y por 30 a 60 seg después para parar el sangrado.

La vena mamaria se punciona en forma semejante, cuidando el operador de ser pateado. También es más difícil de limpiar la piel, pero es innecesario destacar la vena en la mayoría de los casos.

La vena caudal se encuentra muy cerca de la arteria, para realizar la punción se alza la cola y se clava una aguja pequeña calibre 20 ó 22 de 25mm y a 15 cm de la base de la cola verticalmente en la línea media hasta que penetre en el bazo. Se debe identificar la sangre como venosa o arterial; ésta es más roja y sale con mayor presión.

#### **OVEJAS**

La vena yugular es la más usada pero la vena y arterias femorales son también fáciles de puncionar. Se hace una partición en la lana, a veces previamente cortada, para exponer un área de piel limpia. La yugular se encuentra con frecuencia debajo de la piel pero puede estar incluida en el tejido adiposo. La piel es blanda y la aguja (calibre 18-22 de 25 mm) entra con facilidad y frecuentemente atraviesa el vaso. Haciendo un poco de succión, la sangre penetrará en la jeringa si la aguja se encuentra en la luz del vaso.

# EL LABORATORIO DE LA REGION

Web: www.microclin.com e-mail: microclin@microclin.com



Para sangre venosa se utiliza la vena yugular. Con el pulgar izquierdo en el surco yugular a la mitad de su trayecto en el cuello, se comprime y sujeta la vena. Se clava la aguja (cal. 18-20 de 38 mm de longitud) en ángulo aproximado de 15° con la piel 1 cm arriba del pulgar que está sujetando el vaso, se introduce 1 ó 2 cm bajo la piel, se aumenta el ángulo a 45° y se empuja para que entre en la vena. Esta penetración debe hacerse en un solo movimiento suave y continuo. Esto ayuda a disminuir el sangrado al sacar la aguja. De la carótida puede obtenerse sangre arterial poco más o menos como en la vaca, pero el procedimiento requiere práctica y no debe ser intentado en un animal valioso por una persona inexperta. Es más fácil obtener sangre de la gran arteria metatarsiana, situada en una canaladura sobre la cara antero-externa del corvejón, entre el tercero y cuarto huesos metatarsianos. Se inyecta en la piel un poco de anestésico local, después de unos minutos, se pincha la arteria con una aguja de calibre 20 y 25 mm, mantenida en ángulo recto con el vaso, firmemente encajado en el surco óseo.

# **CERDO**

Se usan las venas de las orejas y la cola y la vena cava anterior. De una oreja se toma sangre por incisión de una vena con escalpelo o por punción con una aguja. La punción de la vena cava es peligrosa y deber ser practicada por una persona experta.

#### **PERRO Y GATO**

Es muy útil el servicio de un ayudante experto en el manejo de animales. Las venas cefálica y safena son usadas comúnmente en el perro y algunas veces en el gato. Con una mano el ayudante sujeta con suavidad la cabeza del animal y con la otra rodea por detrás, arriba del codo extendiéndolo un poco. Con el pulgar y los otros dedos de esta mano se fija la piel floja para sujetar el vaso firmemente. El operador inmoviliza el vaso con el pulgar e inserta la aguja (cal, 18, 22,25 o 38 mm) arriba de este punto.

De la vena yugular se toma comúnmente sangre en el gato y algunas veces en el perro; el procedimiento es semejante al descrito para otras especies. La sangre arterial se obtiene de la vena femoral, que es palpada en su fosa. Este procedimiento es probablemente más largo y doloroso que la venipunción y se recomienda el uso de anestesia local.

NOTA: La cantidad de muestra obtenida a través de la punción debe tenerse en cuenta en las diferentes especies, es así como para las especies mayores puede obtenerse por punción sin causar trastornos hasta 15 ml de sangre, y en pequeñas especies la muestra no se puede exceder de 10 ml.

# **AVES**

Igualmente que para las otras especies la sujeción o inmovilización es de gran importancia para el éxito del procedimiento. Existen varios sitios de punción que serán elegidos de acuerdo a la experiencia del operador.

La vena radial (alar), es el sitio de punción mas comúnmente elegido por su facilidad; se elige una de las dos alas, se levanta, se sujeta el ala libre junto con las patas del animal, seguidamente quien realizara la punción inmoviliza con los dedos pulgar e índice la vena alar, previo a esto se debe desplumar el recorrido de la vena con el fin de visualizarla mejor, con aguja numero 21 se hace inserción sobre la vena en un ángulo de 15°, se debe tener cuidado de no extravasar ya que

# EL LABORATORIO DE LA REGION

Web: www.microclin.com e-mail: microclin@microclin.com



la pared de la vena es muy delgada y podría ocurrir con facilidad, observándose hematoma inmediatamente, si esto no sucede se procede a extraer la muestra, aproximadamente de 1 a 2 ml de sangre en aves de mayor tamaño, y en aves mas pequeñas 0,5 ml ya que una cantidad mayor puede producir anemias en esta especie. Otros sitios de punción menos utilizados son la vena atlantooccipital ubicada entre el atlas y la región occipital, la inserción de la aguja debe hacerse perpendicular al sitio antes mencionado. La punción intracardiaca debe realizarse con mucho cuidado ya que un error en ella, al puncionar las aurículas puede causar la muerta inmediata del animal.

#### 2. TRANSPORTE DE LA MUESTRA

El cuidado de la muestra sanguínea hasta que es analizada en el laboratorio es importante, debe ser correctamente rotulada y conservada para las pruebas bioquímicas.

Para el transporte y conservación del *suero* se debe esperar la retracción del coágulo, en nuestro medio, la sangre de los animales se coagula entre 20-30 minutos, sin embargo lo mas recomendado es esperar 1-2 horas a temperatura ambiente, cuanto más tiempo se deje para que esta retracción tenga lugar, mayor cantidad de suero se obtendrá, aunque la cantidad de suero no será nunca mayor de un 40% del volumen original de sangre. La retracción y coagulación se pueden producir mucho más rápido si se incuba el frasco a 37°C durante 1 hora y después se coloca en un frigorífico durante media hora más; después de la retracción del coágulo la muestra debe ser refrigerada a 4°C para su transporte, colocándola en hielo picado o en una caja fría.

Para el transporte y conservación del *plasma* no hay necesidad de esperar que la sangre se sedimente, después de obtenida debe ser refrigerada para su envío al laboratorio en nevera portátil con hielo seco o picado.

El *suero* y el *plasma* no deben ser conservados más de 6 horas en refrigeración sin ser separados de los demás componentes sanguíneos, porque esto trae como consecuencia alteración en los diferentes metabolitos de la sangre a determinar y por lo tanto errores en los resultados del laboratorio.

Para la conservación de la muestra se emplean anticoagulantes apropiados para algunas determinaciones, como por ejemplo: se utiliza fluoruro para la glucosa o heparina para la insulina, etc. Debemos tener conocimiento de la aplicación de estos anticoagulantes en nuestro medio para mejorar en lo posible el transporte y conservación de las muestras a nuestro laboratorio y evitar errores en las determinaciones.

La transferencia de muestras de una persona a otra o de un lugar a otro no debe hacerse descuidadamente, la obtención, transporte y análisis de una muestra de sangre siempre debe registrarse en forma oficial. El incumplimiento de los procedimientos formales de registro descalifica la muestra para todo tratamiento ulterior.

# 3. MANEJO DE LA MUESTRA

En el laboratorio dependiendo de la muestra (suero o plasma) se procede de la siguiente manera:

# EL LABORATORIO DE LA REGION



El tubo que contiene sangre más anticoagulante se debe centrifugar a 1500 - 2000 r.p.m. durante 10-15 minutos para separar las células del plasma. El plasma que constituye la capa más externa, se puede extraer entonces empleando una pipeta Pasteur o un cuenta gotas, y se transfiere a un tubo de almacenamiento. Se debe tener mucho cuidado para no alterar la capa celular, por lo que la pipeta no se debe poner demasiado cerca de la capa de células ya que la succión puede alterar y extraer cierto numero de células de la superficie que podrían alterar las determinaciones bioquímicas. Para esto se recomienda centrifugar nuevamente este sobrenadante y repetir el paso anterior, obteniendo el plasma con menos células interferentes.

#### **3.2. SUERO**

El tubo que contiene sangre sin anticoagulante se debe centrifugar a 1500 r.p.m. durante 10 minutos para separar las células del suero. Luego con una pipeta Pasteur se debe separar el suero o sobrenadante y transferir a un tubo de almacenamiento para la realización de las diferentes pruebas.

La separación del suero del coágulo es generalmente mucho mas sencilla, cuando se emplean recipientes de vidrio, o de poliestireno especialmente tratados, puesto que el coagulo se retrae con suavidad de las paredes del frasco o del tubo y eventualmente queda como una pequeña protuberancia en la base, entonces el suero se puede verter o aspirar fácilmente con pipeta y transferir a un tubo para almacenamiento. También se recomienda como en el caso del plasma, centrifugar nuevamente el suero y obtenerlo libre de células que pueden interferir en las determinaciones.

# 3.3. CONSERVACION DE LA MUESTRA

Las muestras de suero o plasma previamente separadas de las células, pueden conservarse a temperatura ambiente (20-30 °C) durante un día sin que se deterioren, en la parte refrigerada de un frigorífico (4 °C) durante 4 días; en el congelador (-15 a -20 °C) durante una semana o indefinidamente. Particularmente, debe evitarse hacer congelaciones y descongelaciones repetidas para que las enzimas no pierdan su actividad inicial. Las muestras congeladas deben descongelarse lentamente hasta la temperatura ambiente, y entonces las muestras descongeladas se deben mezclar completamente por inversión. De esta manera se conservaran mejor los metabolitos, se obtendrán resultados mas acertados y diagnósticos más exactos.

# 4. EQUIPO "AMES QUIK LAB"

### 4.1. CARACTERISTICAS DEL EQUIPO "AMES QUIK LAB."

El equipo AMES QUIK LAB trabaja con programas específicos de métodos prefijados, estos programas manejan parámetros como la longitud de onda, factor estándar, valores de referencia, etc., que están almacenados en el módulo QUIK LAB.

En el trabajo de rutina se pueden seleccionar estos programas oprimiendo simplemente la tecla de la determinación deseada y automáticamente el instrumento selecciona los parámetros necesarios para la determinación.

# EL LABORATORIO DE LA REGION



Las condiciones ambientales de trabajo tienen una temperatura de 15-35°C y una humedad relativa de 15-85 %, además maneja dos tipos de temperatura, la temperatura de medida (25°, 30° y37°C) y una temperatura de referencia (25°, 30° y37°C), las cuales deben ser iguales en el momento del análisis.

El tiempo de medida utilizado es de 45, 90 y 180 seg según cada determinación. En cuanto a la longitud de onda posee filtros interferenciales de precisión colocados en un rotor con posiciones de 440, 405, 500, 546, 578 y 620 nanometros aproximadamente.

El volumen de la cubeta va de 500 μL a 2100 μL para técnicas micro y semimicro.

# 4.2. OPERACIONES DE ENCENDIDO

- 1. Encender el equipo del interruptor POWER que se encuentra en la parte trasera del equipo.
- 2. Esperar 3 minutos la señal auditiva del equipo para iniciar procedimiento.
- 3. Elegir la temperatura necesaria según cada determinación. Así:
  - a. Oprimir la tecla "PROGRAM"
  - b. Oprimir la tecla "3"
  - C. Mediante la tecla "\*" elegir la temperatura deseada según la técnica.
  - d. Oprimir la tecla "ENTER".
  - e. Oprimir la tecla "8".
  - f. Mediante la tecla "\*" elegir la temperatura interna del equipo, la cual debe ser igual a la temperatura de la técnica.
  - g. Oprimir la tecla "ENTER" dos veces.
- 4. Oprimir la tecla correspondiente a la determinación a realizar.

EN ESTE MOMENTO EL EQUIPO ESTARA EN OPTIMAS CONDICIONES PARA INICIAR EL PROCEDIMIENTO DE CADA PRUEBA.

### 5. DETERMINACIONES BIOQUIMICAS

Las determinaciones bioquímicas en nuestro laboratorio se realizan utilizando suero como principal muestra, se prefiere trabajar con suero porque este se hemoliza menos probablemente que el plasma, además no contiene anticoagulantes los cuales pueden interferir en las determinaciones que se vayan hacer o pueden extraer el agua de las células sanguíneas originando la dilución de los constituyentes. Sin embargo, el plasma puede ser utilizado en las determinaciones de urea y glucosa porque no existe una diferencia muy marcada en la concentración de estos metabolitos en los hematíes y en el plasma, pero la diferencia en las concentraciones de otros constituyentes es mas elevada. En nuestro laboratorio se realizan con mayor frecuencia y con fines diagnósticos las siguientes determinaciones:

# 5.1. GLUCOSA

# EL LABORATORIO DE LA REGION



El nivel de glucosa sanguínea refleja las condiciones nutricionales, emocionales y endocrinas del sujeto. Después de la comida aumenta "hiperglucemia alimentaria" en animales monogastricos, pero no en los rumiantes. Durante la excitación aumenta probablemente como efecto de la liberación de norepinefrina. Por esta razón es costumbre obtener la sangre de individuos posabsortivos quietos, para determinar la "glucosa sanguínea en ayunas". La concentración de glucosa en lo hematíes se aproxima a la concentración de glucosa en plasma en la mayoría de los monogastricos y rumiantes jóvenes. Los eritrocitos de los equinos contienen también poca glucosa, la concentración de glucosa en el plasma excede generalmente a la de glucosa en sangre en 10 a 30 mg/ 100 ml en rumiantes y caballos adultos.

La concentración de glucosa sanguínea aumenta por la norepinefrina, epinefrina y glucagón, tres substancias glucogenolíticas, y por los glucocorticoides que inhiben la utilización de la glucosa y estimulan la gluconeogénesis. También se elevan los valores de glucosa por *diabetes mellitus* asociada con hiperadrenocorticalismo, debido a una hipersecreción de las hormonas adrenocorticales por neoplasia o superdosificación de corticoesteroides, se asocia también con hipertiroidismo y convulsiones.

La concentración de glucosa disminuye por el ayuno o por el ejercicio prolongado, por el exceso de insulina ya sea por un insulinoma o por dosis altas de insulina como terapia; en toxemia, inanición y lesiones hepáticas; también disminuye en hipoadrenocorticalismo debido a una reducción en la secreción de las glándulas adrenales o a una producción reducida de ACTH por la glándula pituitaria.

# RESPONSABLE.

Bacteriólogo.

#### METODO.

GOD-POD. Test color - enzimático. Glucosa - oxidasa - peroxidasa.

#### PRINCIPIO.

La glucosa es transformada por la glucosa oxidasa (GOD), en ácido glucónico y en peróxido de hidrógeno, el cual en presencia de peroxidasa (POD), oxida el cromógeno (4-aminofenazonal/fenol), convirtiéndolo en un compuesto de color rojo, el cual es cuantificado por el fotómetro del equipo.

### MUESTRA.

Suero o plasma con EDTA.

EQUIPO.

QUICK LAB

#### REACTIVOS.

1 reactivo (tampón/enzimas/cromogeno)

1 A Fenol

La solución 1 es estable a 2-8 ℃ durante 2 meses y a 15 -25 ℃ durante 2 semanas.

# CONDICIONES.

# EL LABORATORIO DE LA REGION



El animal en lo posible debe estar en "ayunas". (Mínimo 8 horas).

Evitar en lo posible la fuerza en el momento de la toma de muestra, para minimizar las condiciones de estres, que pueden alterar el metabolismo de los carbohidratos.

#### LINEALIDAD.

La linealidad del método se obtiene hasta 500mg/dl.

#### **PROCEDIMIENTO**

Preparar fotómetro a una temperatura de 37℃.

	Blanco	Standard	Muestra
Solución 1	1000 μΙ	1000μl	1000μl
Solución standar		10μΙ	
Suero problema			10µl

Incubar a 37 ℃ en baño de María por 15 min, o a temperatura ambiente por 30 min. Colocar el Blanco en la cubeta de reacción y presionar la tecla "BLANK", luego colocar el estándar y presionar la tecla "CALIBRATE", por último colocar la muestra y presionar la tecla "ANALYSE".

### **ACCIONES CORRECTIVAS PARA RESULTADOS INACEPTABLES**

- Calibración del equipo. (Remitirse al manual del equipo).
- Centrifugar muestras lo más rápido posible.
- Cambio de lote de sueros multicalibradores y reactivos, realizar nueva calibración del equipo.
- Verificar reactivos que correspondan a la prueba pedida y evitar agotamiento de los mismos.
- Rechazar muestras hemolizadas e insuficientes.
- ➤ Muestras que no se preparan el mismo día, refrigerar a 4ºC.
- Confirmar la linealidad de la prueba y si es necesario realizar las diluciones respectivas.

# **EXPRESION DE RESULTADOS.**

Los resultados para esta prueba en nuestro laboratorio, se expresan en mg/dl.

### 5.2. COLESTEROL TOTAL

El colesterol ha recibido gran atención en medicina humana porque se halla implicado en la ateroesclerosis, pero su importancia en las enfermedades de los animales domésticos no ha sido aun demostrada.

El colesterol se encuentra en todas las fracciones lipídicas de la sangre. Para los fines de patología clínica, el colesterol se valora en el plasma como colesterol total y a veces se divide en dos fracciones: "libre" y esterificado.

El colesterol "libre" esta unido a lípidos pero no esterificado.

# EL LABORATORIO DE LA REGION



La mayoría de los animales pueden tener niveles elevados de colesterol después de alimentarse con grasa, también en disfunción hepática incluyendo la obstrucción del conducto biliar, porque la destrucción de las células hepáticas trae como consecuencia una disminución en la actividad metabólica del hígado y se reduce mas la degradación del colesterol que la síntesis, por lo que los niveles en sangre aumentan. En hipotiroidismo los niveles de colesterol aumentan porque la carencia de hormonas tiroideas reduce la actividad metabólica de las célula hepáticas así como también de las células de otras partes del organismo. También aumentan los niveles de colesterol en diabetes mellitus, en nefrosis y puede presentarse un ligero incremento con infarto al miocardio.

Los niveles bajos de colesterol pueden indicar debilidad o malabsorción de grasa pero son de muy rara incidencia.

La determinación de colesterol total por el laboratorio es supremamente útil en el hipotiroidismo y en la nefrosis, en la disfunción hepática y *diabetes mellitus* se deben realizar otras pruebas mas especificas.

# RESPONSABLES.

Bacteriólogos.

#### METODO.

Test Enzimático Colorimétrico.

#### PRINCIPIO DEL ANALISIS.

Los ésteres del colesterol son hidrolizados por la colesterol éster hidrolasa a colesterol libre y ácidos grasos. El colesterol libre existente, junto con el producido por la reacción, es oxidado por la colesterol oxidasa a colestenona y peróxido de hidrogeno. Este ultimo en presencia de peroxidasa oxida el cromogeno (4 aminofenazona/ácido 2-hidroxifenilacetico) a un compuesto de color rojo.

### MUESTRA.

Suero, plasma con EDTA.

#### EQUIPOS.

**QUIK LAB** 

# REACTIVOS.

1 TAMPON/ ACIDO 2-HIDROXIFENILACETICO/ TENSOACTIVOS

1 A TAMPON / ENZIMAS /4- AMINOFENAZONA / FERROCIANURO POTASICO.

PATRON: Colesterol de 200mg/dl, listo para ser utilizado.

La solución 1 es estable de 2-8 °C durante un mes.

La solución de trabajo (1+2) es estable de 2 a 8 °C durante dos semanas si esta guardada en botella oscura.

# CONDICIONES.

Para un optimo resultado de laboratorio es preferible que el animal tenga un ayuno mínimo de 12 horas y que durante la toma de la muestra no se encuentre en condiciones de estres, esto es supremamente difícil en nuestro medio, pero si es posible realizarlo, se obtendrán resultados mas acertados.

# EL LABORATORIO DE LA REGION



La linealidad del método es de 900 mg/dl.

#### PROCEDIMIENTOS.

Preparar el fotómetro a una temperatura de 37 °C.

	BLANCO	STANDAR	MUESTRA
Solución 1	1000µl	1000μl	1000μl
Solución standar		10μΙ	
Suero problema			10μΙ

Incubar a 37 °C en baño de María por 5 min, o temperatura ambiente por 15 min.

Colocar el Blanco en la cubeta de reacción y presionar la tecla "BLANK", luego colocar el estándar y presionar la tecla "CALIBRATE", por último colocar la muestra y presionar la tecla "ANALYSE".

#### ACCIONES CORRECTIVAS PARA RESULTADOS INACEPTABLES.

Ver acciones correctivas de glucosa.

#### **EXPRESION DE RESULTADOS**

Los resultados para esta determinación se expresan en mg/dl o en mmol/L. En el laboratorio se expresan los resultados en mg/dl.

### 5.3. UREA

La urea es un compuesto orgánico relativamente simple producido por los mamíferos en el hígado como producto final del catabolismo de las proteínas. Es una de las substancias más difusibles en el cuerpo y se encuentra en todos los líquidos del cuerpo. Es relativamente atóxica, aunque en concentraciones altas desnaturaliza proteínas con la formación de productos tóxicos.

La urea se elimina principalmente por los riñones, pero una porción de ella por la piel, sobre todo en los animales que sudan.

Se a observado que el nitrógeno ureico sanguíneo no se eleva en perros, salvo pocas excepciones, hasta que al menos el 75% del riñón funcional se ha destruido, y se aconseja hacer la determinación en todos los pacientes quirúrgicos de mas de 5 años y en toda enfermedad en perros viejos antes de iniciar el tratamiento.

La urea se aumenta en sangre por trastornos renales como la insuficiencia renal crónica y aguda; por obstrucción de las vías urinarias; excesiva destrucción de proteínas como en estados de fiebre, toxicidad o sepsis extensa. También se pueden aumentar los niveles de urea por una hemoconcentración debida generalmente a graves vómitos o diarreas; cuando existe alteración de la función cardiaca que reduce el flujo de sangre a través del riñón se ve aumentada la concentración de urea en sangre.

El descenso en los niveles de urea son raros, teóricamente pueden presentarse en asociación con graves enfermedades hepáticas o malnutrición de proteínas.

# RESPONSABLE.

Bacteriólogo.

# EL LABORATORIO DE LA REGION



UV a tiempo fijo.

# PRINCIPIO.

La urea se hidroliza en presencia de ureasa, en amoniaco y dióxido de carbono. El amoniaco producido en esta reacción se combina con  $\alpha$ -cetoglutarato y NADH en presencia de dehidrogenasa de glutamato, para producir glutamato y NAD. La cantidad consumida de NADH determinado por la disminución de absorbancia en el ultra violeta es proporcional a la cantidad de urea en la muestra.

# MUESTRA.

Suero, plasma con EDTA y orina diluida 1:50 con agua destilada.

#### EQUIPO.

**QUIK LAB** 

### **REACTIVOS**

- 1 ENZIMAS/ COENZIMA/ SUBSTRATO
- 1 A Tampón

PATRON: Urea 80mg/dl. Listo para su uso.

La solución 1 se mantiene estable durante 4 semanas de 2-  $8\,^{\circ}\!\!\!\!$ C y durante una semana de 15-  $25\,^{\circ}\!\!\!\!$ C.

# CONDICIONES.

El animal debe tener un "ayuno" de 12 horas antes de la toma de muestra.

Aunque la urea es estable en suero, plasma u orina durante varios días bajo refrigeración, las muestras, especialmente la orina, deberán valorarse a las pocas horas para evitar la contaminación bacteriana, que podrían provocar una perdida rápida de la urea.

# LINEALIDAD.

En suero y plasma la linealidad del método es hasta 300mg/dl, y 150 g/l para la orina. Para concentraciones altas, diluir la muestra 1:2 con agua destilada, repetir la valoración y multiplicar el resultado por 2.

### PROCEDIMIENTO.

Preparar el fotómetro a una temperatura de 30 ℃.

	Standar	Muestra
Solución de trabajo	1000 μl	1000μl
Solución Standar	10μl	
Suero problema		10μl

Leer inmediatamente colocando muestra por muestra.

# EL LABORATORIO DE LA REGION



Colocar la solución standar y presionar la tecla "CALIBRATE", luego colocar la muestra y presionar la tecla "ANALYSE".

# ACCIONES CORRECTIVAS PARA RESULTADOS INACEPTABLES.

Ver acciones correctivas de glucosa.

### **EXPRESION DE RESULTADOS.**

Los valores en el laboratorio se expresan en mg/dl.

# 5.4. CREATININA

La creatinina esta en el cuerpo principalmente en forma de fosfato de alta energía. En los músculos es fuente de energía. En animales jóvenes de crecimiento se encuentra en mayores cantidades. La creatinina es una substancia muy difusible y distribuida de manera uniforme en el agua corporal. Se elimina del plasma aproximadamente en la tasa de filtración glomerular.

Al estudiar la excreción de creatinina, tiene valor el hecho de que los niveles séricos de creatinina casi no son afectados por la creatinina exógena de los alimentos, por la edad, el sexo, el ejercicio o la dieta. Por lo tanto los niveles elevados solamente se presentan cuando se altera la función renal. La medición de los niveles de creatinina en sangre proporcionan la misma información para el diagnostico y pronostico de la función renal que la obtenida por la medición del nitrógeno uréico.

# RESPONSABLES.

Bacteriólogos.

#### METODO.

Picrato alcalino con desproteinización

#### PRINCIPIO.

La creatinina reacciona en un medio alcalino que no contenga proteínas con pricato, para formar un compuesto rojo –anaranjado (Reacción de Jaffe).

# MUESTRA.

Suero o plasma.

Orina: diluida: 1:50 con agua destilada

# EQUIPO.

**QUIK LAB** 

#### REACTIVOS.

1 Picrato de sodio...... 44mmol/L 2 Hidróxido de sodio...... 4.0 N

PATRON: Creatinina 2 mg/dl. Listo para ser utilizado.

# EL LABORATORIO DE LA REGION



Los reactivos 1 y 2 son estables a temperatura ambiente de 15 a 25 ℃ hasta la fecha de caducidad que viene indicada en la etiqueta.

#### CONDICIONES.

No requiere ayuno previo, porque su excreción depende muy levemente de la alimentación y la diuresis.

No debe estar el animal sometido a estres intenso que puede ser causado en el momento de la toma de muestra, por la resistencia que el animal ejerza.

#### LINEALIDAD.

El método es lineal hasta 12 mg/dl de creatinina. Para concentraciones mayores mezclar un volumen de la muestra con un volumen igual de agua destilada, repetir el ensayo y multiplicar el resultado por 2.

#### PROCEDIMIENTO.

Prepara el fotómetro a una temperatura de 30 °C.

	Standar	Muestra
Solución de trabajo	1000 μΙ	1000μl
Solución Standar	100µl	
Suero problema		100μl

Leer inmediatamente colocando muestra por muestra.

Colocar la solución standar y presionar la tecla "CALIBRATE", luego colocar la muestra y presionar la tecla "ANALYSE".

# ACCIONES CORRECTIVAS PARA RESULTADOS INACEPTABLES.

- Calibración del equipo. (remitirse al manual del equipo)
- Utilizar adecuado volumen de muestra en las cubetas.
- · Verificar reactivos.
- Centrifugar muestra lo más rápido posible.
- Rechazar muestras hemolizadas, hiperlipémicas e insuficientes.
- Refrigerar muestras que no se procesen el mismo día a 4ºC.
- Confirmar linealidad de la prueba y diluir si es necesario.
- Realizar periódicamente el mantenimiento del equipo.

# **EXPRESION DE RESULTADOS**

Los resultados dependiendo del tipo de muestra se expresan así:

SUERO: Se expresa en mg/dl o µmol/L.

ORINA: Se expresa en mg/Kg de peso en 24 horas.

# 5.5. ÁCIDO URICO

Este compuesto es el producto final del catabolismo de las purinas y pirimidinas en mamíferos y el producto final del catabolismo de las proteínas en aves y reptiles.

# EL LABORATORIO DE LA REGION



No se conoce muy bien la significación de la elevación o disminución del ácido úrico en la sangre de los mamíferos. Como el ácido úrico se convierte en alantoina en el hígado en todas las especies, excepto en el hombre, los primates inferiores y el perro dálmata, se ha sugerido que su medición es una prueba sensible de función hepática.

#### RESPONSABLES.

Bacteriólogos.

### METODO.

Test- color enzimático.

#### **PRINCIPIO**

El ácido úrico es convertido por la uricasa en alantoina y peróxido de hidrógeno, el cual en presencia de peroxidasa oxida el cromógeno (4 aminofenazona/ácido 3.5 –dicloro – 2 hidroxibencenosulfonico) formando un compuesto rojo.

#### **MUESTRA**

Suero, plasma con EDTA y orina diluida 1:10 con NaOH 0,01 N

#### **EQUIPO**

**QUIK LAB** 

### **REACTIVOS**

1 Tampón/enzimas /4 –aminofenazona / 3-hidroxi-2,4,6 ácido triiodobenzoico/ potasio ferrocianuro 1 A Surfactante

PATRON: ácido úrico 6 mg/dl. Listo para su uso.

La solución 1 es estable 4 semanas de 2 -  $8\,^{\circ}$ C o una semana de 15 a 25 $^{\circ}$ C, siempre que se mantenga en su botella original.

# **CONDICIONES**

El animal debe tener un "ayuno" de 8 horas. Evitar el estres en la toma de la muestra porque aumentan las concentraciones de ácido úrico.

# **LINEALIDAD**

La linealidad del método es hasta 30 mg/dl.

# **PROCEDIMIENTO**

Preparar el fotómetro a una temperatura de 37 °C

	BLANCO	STANDAR	MUESTRA
Solución 1	1000μΙ	1000µl	1000μl
Solución standar		20μΙ	
Suero problema			20μΙ

Incubar a 37 °C en baño de María por 5 min, o temperatura ambiente por 10 min.

# EL LABORATORIO DE LA REGION



Colocar el Blanco en la cubeta de reacción y presionar la tecla "BLANK", luego colocar el estándar y presionar la tecla "CALIBRATE", por último colocar la muestra y presionar la tecla "ANALYSE".

# ACCIONES CORRECTIVAS PARA RESULTADOS INACEPTABLES.

Ver acciones correctivas de glucosa.

### **EXPRESION DE RESULTADOS.**

Los resultados para esta prueba en nuestro laboratorio, se expresan en mg/dl.

#### **5.6. PROTEINAS TOTALES**

Los principales contribuyentes a la presión osmótica del plasma sanguíneo son los iones y en una pequeña proporción las proteínas. Sin embargo, la baja constante de presión osmótica de las proteínas es vital para el mantenimiento del sistema cardiovascular. Se distinguen dos grandes grupos de proteínas del plasma: las albúminas y las globulinas. Se separan unas de otras por medios químicos sencillos y determinando la cantidad de cada grupo se obtiene la relación A-G. La albúmina de la sangre y las globulinas con excepción de algunas globulinas gamma, son

La albúmina de la sangre y las globulinas con excepción de algunas globulinas gamma, son sintetizadas en el hígado. Por lo tanto cualquier proceso que afecte la síntesis de albúmina disminuirá la relación A-G.

La producción de anticuerpos puede ocasionar algunos cambios en la concentración de gammaglobulina; sin embargo el cambio es más cualitativo que cuantitativo.

El incremento en las proteínas totales puede deberse a la deshidratación la cual presenta una hemoconcentración por vómitos o diarreas, también por un aumento en el nivel de globulina cuando no existe deshidratación, como en enfermedades hepáticas avanzadas (cirrosis), infecciones crónicas y en algunos casos de neoplasias.

Una disminución en los niveles de las proteínas totales se debe siempre a un nivel bajo de la albúmina, acompañado ya sin incremento del nivel de globulina, o por un incremento en el nivel de globulina que es menor que el descenso en el nivel de albúmina. Por lo tanto la relación A-G disminuye. Esto puede ocurrir por: Perdida de albúmina en orina por nefrosis, perdidas de proteínas plasmáticas por hemorragias, falta de ingestión de cantidades adecuadas de proteínas en la dieta, incapacidad del hígado para producir albúmina por hepatitis o cirrosis hepática.

Un bajo nivel de proteínas en la sangre origina una reducción en la presión osmótica coloidal del plasma que puede producir edema.

# RESPONSABLE.

Bacteriólogos.

#### METODO.

Método al biuret.

#### PRINCIPIO.

En solución alcalina, las proteínas forman con los iones de cobre un complejo coloreado.

# MUESTRA.

Suero, plasma con EDTA.

# EQUIPO.

QUIK LAB.

# EL LABORATORIO DE LA REGION



1 Reactivo biuret.

1A agente tensioactivo.

PATRON: Albúmina bovina, fracción V, 6 gr/dl. Listo para ser utilizado.

La solución 1 es estable durante 6 meses de 15 a 25 °C si se almacena en una botella de plástico.

#### CONDICIONES.

El animal requiere un "ayuno" mínimo de 8 hora, antes y durante la toma de la muestra deben evitarse situaciones de estress.

# LINEALIDAD.

El método es lineal hasta aproximadamente 12 g /dl de proteína total.

#### PROCEDIMIENTO.

Preparar el fotómetro a una temperatura de 20 a 25 ℃.

	BLANCO	STANDAR	MUESTRA
Solución 1	1000µl	1000μl	1000μl
Solución standar		20μΙ	
Suero problema			20μΙ

Incubar a temperatura ambiente por 20 min. Leer entre 20 y 60 min.

Colocar el Blanco en la cubeta de reacción y presionar la tecla "BLANK", luego colocar el estándar y presionar la tecla "CALIBRATE", por último colocar la muestra y presionar la tecla "ANALYSE".

# ACCIONES CORECTIVAS PARA RESULTADOS INACEPTABLES.

Ver acciones correctivas de Glucosa.

### **EXPRESION DE RESULTADOS.**

En el laboratorio los resultados se expresan en g /dl.

# 5.7. ALBUMINA

La albúmina sanguínea es sintetizada en el hígado, y su disminución afecta la relación A-G, como ocurre en la fibrosis del hígado.

Se observa hipoalbuminemia en la glomerulonefritis, amiloidosis, ocasionalmente en nefritis intersticial canina, desnutrición, diarrea parasitaria, malignidades hepáticas, necrosis hepática y hepatitis.

No se sabe mucho acerca de casos de hiperalbuminemia. En la deshidratación, la cantidad absoluta de albúmina puede aumentar, sin embargo las globulinas también aumentan de modo que no varia la relación A-G.

Otras causas de disminución de la albúmina puede ser la falta de aminoácidos adecuados, en la gastroenteritis la rapidez del movimiento y posiblemente la mala digestión contribuyen a una perdida mayor.

# EL LABORATORIO DE LA REGION



# **RESPONSABLE**

Bacteriólogos

# **METODO**

BCG

### **PRINCIPIO**

La albúmina en una solución tamponada reacciona con el Verde de Bromocresol (BCG), a través de una reacción de enlace con el colorante.

#### **MUESTRA**

Suero o plasma con EDTA.

#### EQUIPO.

QUIK LAB.

#### **REACTIVOS**

Reactivo BCG

Patrón : Albúmina bovina fracción V, 5 gr/dl. Listo para su uso.

#### CONDICIONES.

El animal requiere un "ayuno" mínimo de 8 hora, antes y durante la toma de la muestra deben evitarse situaciones de estress.

#### LINEALIDAD.

El método es lineal hasta aproximadamente 6g /dl de albúmina.

### PROCEDIMIENTO.

Preparar el fotómetro a una temperatura de 25 ℃.

	BLANCO	STANDAR	MUESTRA
Reactivo BCG	1500μl	1500μΙ	1500µl
Solución standar		10μΙ	
Suero problema			10μΙ

Incubar a temperatura ambiente por 1 min. Leer en 10 min.

Colocar el Blanco en la cubeta de reacción y presionar la tecla "BLANK", luego colocar el estandar y presionar la tecla "CALIBRATE", por último colocar la muestra y presionar la tecla "ANALYSE".

# ACCIONES CORECTIVAS PARA RESULTADOS INACEPTABLES.

Ver acciones correctivas de Glucosa.

# **EXPRESION DE RESULTADOS.**

En el laboratorio los resultados se expresan en g /dl.

# 5.8. TRANSAMINASA GLUTAMICA PIRUVICA (GPT- ALT )

# EL LABORATORIO DE LA REGION



Esta enzima cataliza la transferencia de un grupo  $\alpha$ - amino de la alanina al ácido  $\alpha$ -cetoglutarico. La enzima se encuentra en el hialoplasma de todas las células y existe una relación lineal entre la GPT hepática y el peso del animal. Siendo este el caso la determinación de GPT es casi especifica del hígado del perro y el gato, mientras que es de escaso o de ningún valor en las enfermedades de bovinos y equinos. Se ha encontrada muy elevada en la necrosis hepática.

Es una enzima muy estable, y en estado de congelación se conserva largo tiempo. La ictericia no estorba la determinación de la enzima, pero debe evitarse la hemólisis.

Las enfermedades hepáticas que producen niveles elevados de GPT comprenden neoplasias malignas, cirrosis y hepatitis, incluyendo la que se produce en el perro por el virus de la hepatitis canina infecciosa (HCI)

# RESPONSABLES.

Bacteriólogo.

#### METODO.

Test cinético UV

#### PRINCIPIO.

 $\alpha$  - cetoglutanato +L- alanina en presencia de GPT produce L –glutamato + piruvato, este a su vez +NADH +H+ en presencia de LDH produce lactato +NAD.

#### MUESTRA.

Suero, plasma con EDTA.

#### EQUIPO.

**QUIK LAB** 

### REACTIVOS.

1 Reactivo Tampón / substrato.

1 A NADH/LDH

 $2 \alpha$  - cetoglutarato

PIRIDOXAL 5-FOSFATO

La solución 1 es estable de 2-8 ℃ durante 3 meses y de 15-25 ℃ durante 1 semana. La solución 2 es estable de 2-8 ℃ durante 4 meses y de 15-25 ℃ durante 1 mes.

### CONDICIONES.

El animal debe tener un "ayuno" de 8 horas como mínimo.

#### LINEALIDAD.

Para concentraciones mayores de 265 y 271 U/L a una absorbancia de 340 y 334 nm respectivamente, realizar una dilución 1:10.

# **PROCEDIMIENTO**

Preparar el fotómetro a una temperatura de 37 °C.

	Muestra
Solución 1	1000 μΙ

# EL LABORATORIO DE LA REGION

Web: www.microclin.com e-mail: microclin@microclin.com



Suero Problema	100 μΙ
Incubar en baño de María a 37 ℃	
Solución 2	100 μΙ

Colocar a temperatura ambiente durante 30 segundos.

Leer muestra por muestra, colocar la muestra en la cubeta de reacción y presionar al tecla "START".

# ACCIONES CORRECTIVAS PARA RESULTADOS INACEPTABLES.

- Calibración del equipo. (Remitirse al manual del equipo).
- Centrifugar muestras lo más rápido posible.
- Cambio de lote de sueros multicalibradores y reactivos, realizar nueva calibración del equipo.
- > Verificar reactivos que correspondan a la prueba pedida y evitar agotamiento de los mismos.
- Rechazar muestras hemolizadas e insuficientes.
- ➤ Muestras que no se preparan el mismo día, refrigerar a 4ºC.
- Confirmar la linealidad de la prueba y si es necesario realizar las diluciones respectivas.
- Asegurar el mantenimiento del equipo.

# **EXPRESION DE RESULTADOS**

Los resultados para esta prueba se expresan en U/L.

# 5.9. TRANSAMINASA GLUTAMICA OXALACETICA (GOT - AST)

Esta enzima hialoplasmica se encuentra en la mayoría de las células del cuerpo; la mayor concentración esta en las fibras musculares. De ahí su elevación en la necrosis muscular. La GOT cataliza la transferencia de un grupo  $\alpha$ -amino del ácido aspartico al ácido  $\alpha$ -cetoglutarico.

La GOT cataliza la transferencia de un grupo  $\alpha$ -amino del ácido aspartico al ácido  $\alpha$ -cetoglutarico. Su valoración es muy útil en animales grandes como indicación de lesión muscular o necrosis hepática. La enzima se eleva considerablemente en miopatías por ejercicio en caballos, distrofia muscular aviar, en caballos durante el entrenamiento y en la enfermedad de los músculos blandos.

# RESPONSABLES.

Bacteriólogos

#### **METODO**

Test cinético UV

### **PRINCIPIO**

L –aspartaco + acetoglutarato en presencia de GOT (reacción reversible) produce L –glutamato + oxaloacetato , este ultimo con la adición de NADH mas H+ en presencia de MDH produce L – malato +NAD.

#### **MUESTRA**

Suero, plasma con EDTA.

# EL LABORATORIO DE LA REGION



#### **REACTIVOS**

1 Reactivo: Tampón / substrato

1 A NADH/MDH/LDH 2 α - cetoglutarato

PIRIDOXAL 5 FOSFATO

La solución 1 es estable de 2-8 °C durante 3 meses y de 15-25 °C durante 1 semana. La solución 2 es estable de 2-8 °C durante 4 meses y de 15-25 °C durante 1 mes.

#### CONDICIONES

"Ayuno" de 8 horas aproximadamente.

#### LINEALIDAD.

Para concentraciones mayores de 265 y 271 U/L a una absorbancia de 340 y 334 nm respectivamente, realizar una dilución 1:10.

# **PROCEDIMIENTO**

Preparar el fotómetro a una temperatura de 37 °C.

	Muestra	
Solución 1	1000 μl	
Suero Problema	100 μΙ	
Incubar en baño	de María a 37℃	
Solución 2	100 μl	

Colocar a temperatura ambiente durante 30 segundos.

Leer muestra por muestra, colocar la muestra en la cubeta de reacción y presionar la tecla "START".

### ACCIONES CORRECTIVAS PARA RESULTADOS INACEPTABLES.

- Calibración del equipo. (Remitirse al manual del equipo).
- Centrifugar muestras lo más rápido posible.
- Cambio de lote de sueros multicalibradores y reactivos, realizar nueva calibración del equipo.
- Verificar reactivos que correspondan a la prueba pedida y evitar agotamiento de los mismos.
- > Rechazar muestras hemolizadas e insuficientes.
- ➤ Muestras que no se preparan el mismo día, refrigerar a 4ºC.
- > Confirmar la linealidad de la prueba y si es necesario realizar las diluciones respectivas.
- Asegurar el mantenimiento del equipo.

### **EXPRESION DE RESULTADOS.**

En el laboratorio las GOT se expresan en U/L

# EL LABORATORIO DE LA REGION

Web: www.microclin.com e-mail: microclin@microclin.com



# 5.10. FOSFATASA ALCALINA (ALP)

Esta enzima hidroliza los fosfatos orgánicos en fosfato inorgánico y ña fracción orgánica. Es una enzima muy estable y puede ser congelada con poca o ninguna pérdida de actividad se halla gran cantidad en el hígado, riñón, mucosa intestinal y hueso. En la mayoría de los animales, quizá con excepción del gato se elimina en su forma natural por el hígado por lo tanto cualquier obstrucción al flujo de la bilis causa aumento de la enzima en el suero. El problema es determinar la fuente de esta elevación cuando no es patente la enfermedad hepática.

Se producen elevaciones de la enzima en el suero, en enfermedades del bazo, hígado, riñón, mucosa intestinal o hueso. En la obstrucción biliar se eleva notablemente, las neoplasias óseas malignas causan a veces niveles elevados. También se puede elevar la ALP por una mayor actividad de los osteoclastos durante el crecimiento del esqueleto, por enfermedades óseas degenerativas en animales adultos, raquitismo, osteomalacia y en osteosarcoma. Durante interferencias con la excreción hepática, debida a una destrucción de las células hepáticas o a una destrucción del conducto biliar. Los resultados se interpretan mejor en conjunción con los niveles de GPT, que generalmente se encuentran aumentados en estos casos.

# RESPONSABLE.

Bacteriólogo.

#### METODO.

Colorimétrico.

#### PRINCIPIO.

P-nitrofenilfosfato + H2O en presencia de fosfatasa alcalina produce fosfato + P-nitrofenol.

#### MUESTRA

Suero o plasma heparinizado.

#### EQUIPO.

**QUIK LAB** 

### REACTIVOS.

1 TAMPON

1 A substrato

#### CONDICIONES.

El animal debe tener un "ayuno" mínimo de 8 horas.

#### **LINEALIDAD**

El método tiene una linealidad de 1492U/I, valores superiores a este realizar diluciones 1:10.

# **PROCEDIMIENTO**

Preparar el fotómetro a una temperatura de 37 °C.

# EL LABORATORIO DE LA REGION



	Muestra	
Solución 1	1000 μΙ	
Suero Problema	10 μl	
Incubar en baño	de María a 37℃	
Solución 2	100 μΙ	

Colocar a temperatura ambiente durante 30 segundos.

Leer muestra por muestra, colocar la muestra en la cubeta de reacción y presionar la tecla "START".

# ACCIONES CORRECTIVAS PARA RESULTADOS INACEPTABLES.

Ver acciones correctivas de glucosa.

# **EXPRESION DE RESULTADOS.**

Los resultados se expresan en U/I.

# **5.11. BILIRRUBINA TOTAL Y DIRECTA**

La bilirrubina es un producto de degradación de la hemoglobina, formada en las células reticuloendoteliales del bazo y de la medula ósea, que es transportada en el torrente circulatorio por diversas partículas. La bilirrubina libre o no conjugada no es capaz de atravesar la barrera glomerular del riñón. Cuando la bilirrubina libre se conjuga con ácido glucorónico en el hígado, se hace soluble en agua y es capaz de atravesar los glomerulos renales. La bilirrubina conjugada se excreta normalmente a través de la bilis. Si la conjugación y excreción en el hígado son normales el nivel sérico de bilirrubina total será de 1mg/dl. En el laboratorio se realiza para bilirrubina 2 pruebas, la bilirrubina total (conjugada y no conjugada) y la bilirrubina directa (conjugada).

La bilirrubina total aumenta si la destrucción de eritrocitos aumenta o si la conjugación de bilirrubina en el hígado es defectuosa.

La bilirrubina directa aumenta si la excreción de bilis disminuye.

En la hepatitis aguda la bilirrubina total esta aumentada, en la cirrosis hepática aumenta la bilirrubina total y la bilirrubina directa.

**BILIRRUBINA TOTAL** 

# RESPONSABLE.

Bacteriólogo.

# METODO.

Método del Acido Sulfanílico Diazotado.

### PRINCIPIO.

La bilirrubina total (conjugada y no conjugada) reacciona en medio ácido con el ácido sulfanílico diazotano, en presencia de aceleradores formando un azocompuesto de color azul.

# MUESTRA.

Suero o plasma con EDTA.

# EQUIPO.

**QUIK LAB** 

# EL LABORATORIO DE LA REGION



1 Nitrito sódico.

1 A ácido sulfanilico/HCL/aceleradores.

La solución 1 es estable hasta por 4 semanas entre 2 y 8 °C y durante 3 días entre 15 y 25 °C, si se guarda en el vial original y se protege de la luz directa.

# CONDICIONES.

"Ayuno" de 8 horas, el ayuno prolongado produce aumento de la bilirrubina porque parte de esta, que se almacena en el tejido adiposo, se libera durante la lipolisis y sale a circulación. El uso de torniquete no debe prolongarse mas de 30 segundos. LINEALIDAD.

El método es lineal hasta 30 mg/dl, para concentraciones mayores realizar diluciones 1:2.

# PROCEDIMIENTO.

Preparar el fotómetro a una temperatura de 37 °C.

	Blanco	Muestra
Reactivo 1A	1000 μΙ	
Solución 1		1000μl
Suero problema	50μΙ	50μl

Incubar a 37 °C por 3 min o a temperatura ambiente por 5 min.

Leer en 1 hora.

Colocar los blancos y presionar tecla "BLANK", colocar las muestras y presionar tecla "ANALYSE".

# ACCIONES CORRECTIVAS PARA RESULTADOS INACEPTABLES.

Ver acciones correctivas de Glucosa.

# INTERFERENCIAS.

La luz directa solar a temperatura ambiente causa disminución de la bilirrubina en 50% en el intervalo de una hora.

Soluciones de limpieza del material como el hipoclorito y dextran pueden producir turbidez que no se puede corregir completamente por medio de un blanco, aumentando los valores.

Las muestras hemolizadas dan lugar a resultados falsamente bajos en este análisis.

# **EXPRESION DE RESULTADOS.**

En el laboratorio los resultados se expresan en mg/dl.

# **BILIRRUBINA DIRECTA**

# RESPONSABLE.

Bacteriólogo.

# EL LABORATORIO DE LA REGION



#### METODO.

Método del ácido sulfanilico diazotado.

# PRINCIPIO.

La bilirrubina directa (conjugada) reacciona en medio ácido con ácido sulfanilico diazotado, formando un azocompuesto de color azul.

#### MUESTRA.

Suero o plasma con EDTA.

#### EQUIPO.

QUIK LAB.

#### REACTIVOS.

- 1 Nitrito sódico.
- 1 A ácido sulfanilico/HCL.

La solución 1 es estable hasta por 4 semanas entre 2 y 8 °C y durante 3 días entre 15 y 25 °C, si se guarda en el vial original y se protege de la luz directa.

#### CONDICIONES.

"Ayuno" de 8 horas, el ayuno prolongado produce aumento de la bilirrubina porque parte de esta, que se almacena en el tejido adiposo, se libera durante la lipolisis y sale a circulación. El uso de torniquete no debe prolongarse mas de 30 segundos.

#### LINEALIDAD.

El método es lineal hasta 15mg/dl de bilirrubina directa, para concentraciones mayores realizar diluciones 1:2.

# PROCEDIMIENTO.

Preparar el fotómetro a temperatura ambiente o a 37 °C.

	Blanco	Muestra
Reactivo 1A	1500 μΙ	
Solución 1		1500μΙ
Suero problema	100μl	100μl

Incubar a 37 °C por 2 minutos o a temperatura ambiente por 5 min.

Colocar el blanco y presionar tecla "BLANK", colocar las muestras y presionar tecla "ANALYSE". En absorbancia a una longitud de onda de 570nm.

# ACCIONES CORRECTIVAS PARA RESULTADOS INACEPTABLES.

Ver acciones de Glucosa.

# INTERFERENCIAS.

# EL LABORATORIO DE LA REGION



La luz directa solar a temperatura ambiente causa disminución de la bilirrubina en 50% en el intervalo de una hora.

Soluciones de limpieza del material como el hipoclorito y dextran pueden producir turbidez que no se puede corregir completamente por medio de un blanco, aumentando los valores. Las muestras hemolizadas dan lugar a resultados falsamente bajos en este análisis.

# **EXPRESION DE RESULTADOS.**

Los resultados en el laboratorio se expresan en mg/dl.

# 6. QUIMICA SANGUINEA VETERINARIAVALORES DE REFERENCIA

EXAMEN	PERRO	GATO	CABALLO	VACA	CERDO	OVEJA	CABRA	UNIDA D
ALBUMINA	2.6 - 4.0	2.4-3.7	2.5 - 3.8	2.7 -3.7	2.3 - 4.0	2.7 -3.7	2.3-3.6	gr/dl
ALP (GPT)	8.2-57.3	8.3-52.5	2.7-20.5	6.9-35.3	21.7-46.5	14.4-43.89	15.3- 52.3	U/I
AST(GOT)	8.9-48.5	9.2-39.5	115.7-287	45.3- 110.2	15.3-55.3	49-123.3	66-230	U/I
BILIRRUBINA T.	0.1-0.6	0.1-0.5	0.3-3.0	0.0-0.8	0.0-0.5	0.0-0.5	0.1-0.2	mg/d
BILIRRUBINA D.	0.07-0.14	0.0-0.05	0.0-0.4	0.0-0.2	0.0-0.02	0.0-0.27		mg/dl
COLESTEROL	115.6- 253.7	71.3- 161.2	70.9-141.9	62.1- 192.5	81.4- 134.3	44.1-90.1	64.6- 136.4	mg/dl
CREATININA	0.5-1.6	0.5-1.9	0.9-2.0	0.6-1.8	0.8-2.3	0.9-2.0	0.7-1.5	mg/dl
FOSF.ALCALINA	10.6-100.7	12-65.1	70.1-226.8	17.5- 152.7	4.1-176.1	26.9-156.1	61.3- 283.3	U/I
GLUCOSA	61.9-108.3	60.8- 124.2	62.2-114	42.1-74.5	66.4- 116.1	44-81.2	48.2-76	mg/dl
PROT. TOTALES	5.5-7.5	5.7-8	5.7-7.0	6.2-8.2	5.8-8.3	5.4-7.8	6.1-7.1	gr/dl
UREA (BUN)	8.8-25.9	15.4-31.2	10.4-24.7	7.8-24.6	8.2-24.6	10.3-26	12.6- 25.8	mg/dl

NOTA: LOS VALORES DE REFERENCIA DE ACIDO URICO SOLO TIENEN RELEVANCIA EN CANINOS Y SON LOS SIGUIENTES: MACHOS ADULTOS: 0.30 - 1.10 mg/100 ml HEMBRAS ADULTAS: 0.10 -1.50 mg/100 ml

# **BIBLIOGRAFIA**

# EL LABORATORIO DE LA REGION

Marcial Acharán N° 587- Urb. Las Quintanas Telef.: 44 208302 Telefax 44 249115 Celular 949930323
Trujillo-Perú
Web: www.microclin.com



William Medway, D.V.M., ph.d., James E. Prier, John S. Wilkinson, Patología Clínica Veterinaria, editorial UTEHA, México, 1990.

B. M. Bush, Manual del Laboratorio Veterinario de Análisis Clínicos, editorial ACRIBIA Zaragoza España, 1982.

Maxine M. Benjamin, Compendio de Patología Clínica Veterinaria. Editorial IOWA state university press. 1962.

K.V.F Jubb, Peter C. Kennedy, Patología de los animales domésticos. Editorial LABOR. 1973.

EL LABORATORIO DE LA REGION