

SEPARACION DEL SUERO

En este apartado se va a hablar del tema de separación del suero es una práctica donde muchas veces uno pasa por alto, es sencilla, pero es donde ocurren los mayores problemas a la hora de enviar una muestra de suero, en forma adecuada. A continuación detallaremos este punto, que es en alguna oportunidad un punto de inflexión para llevar a cabo el análisis de la muestra por distintas Técnicas en el laboratorio.

Luego de extraer la muestra de sangre, se deja que la muestra transferida a un tubo sin anticoagulante- coagule completamente en el tubo. Cuanto más tiempo se deje el tubo a temperatura ambiente, alrededor de dos horas, mayor cantidad de suero se obtendrá y más pruebas diagnósticas se podrán realizar.

A temperatura ambiente entre 20-25 C la sangre transferida al tubo se debe dejar un mínimo de media hora y preferiblemente de 1-2 horas, la coagulación y la retracción se pueden producir mucho más rápidamente si se incuba el tubo a 37° C. durante 30 minutos y en ambos casos el tubo con la sangre se pone después en refrigeración durante 30-60 minutos. Una vez obtenida la retracción del coágulo se centrifuga igual que si de plasma se tratase. Normalmente por cada 1 cc de sangre entera se pueden obtener 0.3 cc de suero. La separación del coágulo es perfecta si se emplean tubos de vidrio o de poliestireno tratados, los tubos de plástico o de poliestireno sin tratar no son aconsejables porque la retracción del coágulo es menor, el coágulo se adhiere a las paredes, e incluso se puede alojar en la parte superior del tubo, haciendo que la separación del coágulo sea más difícil y a la hora de intentar separar el coágulo se produzca hemólisis, que es el enemigo de la mayoría de las pruebas bioquímicas, hormonales y de electroforesis.

Lo que nunca se debe hacer es centrifugar la sangre antes de que se complete la coagulación, en estas situaciones se formarán cadenas de fibrina que retendrán en su arquitectura, enzimas (ALT, AST, lipasa...), substratos (calcio, fósforo, colesterol...), iones (sodio, potasio, cloro...), proteínas (anticuerpos, globulinas...), hormonas y metabolitos y, los resultados obtenidos de estos sueros siempre serán menores -y por consiguiente inexactos- a los obtenidos de sueros normalmente procesados. También es importante resaltar que no se deben poner los tubos con sangre sin anticoagulantes inmediatamente a la temperatura de 4° C ya que tampoco se obtendrá la retracción del coágulo. Si la extracción de sangre se realiza a última hora de la tarde, es preferible dejarla en reposo a 20-25° C. durante toda la noche y a la mañana siguiente ponerla en refrigeración a 4° C durante 30 minutos y separar el suero. Si la muestra ha de ser enviada al Laboratorio ésta debería estar separada del coágulo ya que los golpes sufridos por las células en

el coágulo, durante el viaje, puede originar su rotura y que se produzca hemólisis, que afectará negativamente a la mayoría de las pruebas.

En resumen para la correcta realización y envío de muestras para realizar pruebas bioquímicas y electroforesis se debe emplear suero o plasma separado en tubos de poliestireno estériles y refrigerados a 4°C y si está congelado mucho mejor.

En cuanto a la separación de suero es conveniente realizarlo en forma manual o con el uso de la centrífuga, en el caso del primero lo ideal es que el tubo este inclinado a 45°, a temperatura ambiental y según lo dicho en párrafos anteriores alrededor 1 a 2 horas. En el caso de tener una centrífuga, en la veterinaria, es preferible el uso de este equipo, así poder enviar el suero refrigerado o congelado, según protocolo de laboratorio. En la rama del laboratorio clínico, para análisis de sangre, por lo general es necesario separar el plasma o suero de los demás componentes para poder analizarlo. Existen varios tipos de equipos: los de baja velocidad que van de 2000 a 6000 rpm que son para separar suero o plasma, hasta las ultracentrífugas de 20000 a 75000 rpm, para la separación de proteínas. Otra forma de clasificarlos son: grandes, medianos y pequeñas o de piso, mesada. De acuerdo a su rotor o araña y sus tubos portamuestras también pueden ser catalogados, pues existen diversas formas y tamaños. Las partes principales son: la tapadera, rotor, cámara o gabinete, base, interruptor de encendido, freno, marcador de tiempo, tacómetro y control de velocidad. En cuanto al cargado de la centrífuga es muy importante para el funcionamiento correcto y su preservación. Un proceso incorrecto puede causar que la centrífuga vibre durante el proceso de centrifugación. Un procedimiento de cargado correcto implica el colocar las cargas en el rotor en forma balanceada. Para esto es necesario cumplimentar requisitos:

- a) Colocar los tubos de modo que la misma masa o peso pueden ser colocadas de forma opuesta en el rotor, si tienen número impar de muestra, busque otra muestra de igual peso a modo de siempre formar pares opuestos de igual peso, nunca coloque un número impar de muestras en la centrífuga.
- b) Los tubos tienen que ser del mismo tamaño, forma y espesor.
- c) Si no hay muestras suficientes se puede equilibrar el equipo con tubos llenos de agua, para tener una disposición geométrica simétrica.
- d) Si los tubos no entran correctamente se deben colocar adaptadores de goma.
- e) Es importante acelerar gradualmente la velocidad y no pararla bruscamente. Se puede utilizar el freno en caso de rotura de tubos.

Otras recomendaciones

Mantenga la centrífuga limpia de restos de muestras, vidrio o polvo. Mantener cerrada la tapadera cuando este centrifugando. No utilice vidrio rallado o agrietado, porque la presión de la centrífuga puede producir una ruptura en estos puntos, pulverizando el vidrio y contaminando las otras muestras. Compruebe la superficie donde tiene el equipo, que este perfectamente nivelada, ya que si sucede lo contrario, causaría vibraciones. Por último compruebe el funcionamiento del equipo realizando los siguientes pasos:

- Cargue la centrífuga correctamente y ciérrela.
- Accione el interruptor de encendido, fijando previamente la velocidad y/o el tiempo de centrífuga.
- Observe con detenimiento el funcionamiento del equipo
- Si existe algún problema de vibración, balancear correctamente los portamuestras. Si no funciona el equipo revisar el cable de conexión eléctrica, etc.

A continuación se presenta una imagen de una centrífuga, señalando sus distintas partes

