

MANERA APROPIADA DE EXTRAER Y DE MANIPULAR LAS MUESTRAS DE SANGRE Y DE SUERO EN LAS AVES

Por el Dr. Doug Grieve PONEDORAS
Una Publicación de HY-LINE INTERNATIONAL

La determinación de títulos de anticuerpos en un lote es una herramienta útil para el control de programas de vacunación, para la evaluación de los desafíos de campo, y para el diagnóstico de enfermedades. La importancia de esta información depende, entre otras cosas, de la calidad de las muestras de suero recibidas por el laboratorio. Las muestras de mala calidad dan resultados no muy claros o completamente equivocados. Las aves que se seleccionen para la extracción de muestras de sangre, las técnicas empleadas para la extracción de la sangre, y la manipulación de las muestras de sangre para obtener el suero influyen en los resultados obtenidos en el laboratorio.

Selección de las aves para obtener las muestras

Se deben utilizar solamente aves sanas en un control rutinario de serología del lote. Las aves de desecho, y las enfermas o con estrés, a menudo resultan en muestras de baja calidad de suero y además, los títulos de anticuerpos generalmente no son representativos de la mayoría de las aves del lote. Asegúrese de seleccionar a aves de jaulas localizadas en diferentes lugares de la caseta. Cuando los lotes están bajo un programa rutinario de pruebas, la extracción de la sangre de las mismas aves (o de las aves en las mismas jaulas) reduce la variabilidad de los resultados en comparación a cuando se usan diferentes aves.

Cuando se estén investigando posibles problemas de enfermedades, seleccione a las aves que estén mostrando síntomas clínicos o lesiones del problema sospechado.

Número de muestras

Es suficiente obtener de 10 a 20 muestras de buena calidad de suero para la investigación rutinaria de posibles brotes de enfermedades en los lotes.

Edad en que se deben obtener las muestras

Para un control rutinario de los anticuerpos del lote, la primera muestra de sangre se debe tomar a las 10 ó 12 semanas de edad. A esta edad los lotes han tenido la oportunidad de reaccionar a una vacunación temprana viva y los anticuerpos maternos ya no están presentes. En este momento es cuando se pueden identificar los problemas relacionados con la vacuna. Si los títulos son inadecuados, todavía hay tiempo para una vacunación adicional antes de que se inicie la producción de huevos. Otra edad común para la determinación de anticuerpos en el lote es justo antes de transferir el lote de pollonas a la caseta de postura. Esta es una buena edad para realizar las pruebas sobre el estado de las aves en lo que se refiere al *Mycoplasma gallisepticum* (MG) y al *Mycoplasma synoviae* (MS) y también para verificar la eficacia de las vacunas de Newcastle, de bronquitis, de encefalomielitis aviar (EA) y de otros títulos antes de que se inicie la producción de huevos. Cuando los lotes están siendo controlados durante la producción de huevo, es suficiente un intervalo de 10 a 12 semanas para observar cualquier cambio que pueda ocurrir en los títulos de anticuerpos. Para investigar un posible brote de enfermedades infecciosas, se deben tomar muestras de sangre en cuanto sean observados los primeros síntomas clínicos de la enfermedad y una vez más después de tres o cuatro semanas. La comparación de los resultados de los títulos de estas muestras de sueros pueden mostrar cambios significantes en los títulos de los patógenos sospechados.

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

e-mail: microclin@microclin.com

Volumen de las muestras de sangre

Dos o tres ml. (o cc) de sangre serán suficientes para producir de 1.0 a 1.5 ml. de suero, si se manipulan apropiadamente. Este volumen de suero es suficiente para realizar pruebas rutinarias de ELISA para las enfermedades de Newcastle, de bronquitis infecciosa, de Gumboro, de EA, y para las pruebas de aglutinación por placa para las enfermedades de MG, MS y tifoidea pullorum. Debe quedar suficiente suero para guardar como reserva en caso de que sea necesario hacer pruebas adicionales. Es importante llenar completa-mente el formulario del laboratorio con la información sobre el lote como la identificación y la ubicación, la edad, el programa de vacunaciones, la fecha en que se tomaron las muestras y un historial de salud pertinente, o los problemas de producción experimentados. Esta información es vital para que la persona que haga el diagnóstico pueda hacer una interpretación significativa de los resultados de las pruebas.

Equipo utilizado para la extracción de sangre de las aves

Se deben utilizar jeringas estériles desechables de 3 a 5 cc., según el tamaño de la muestra que se vaya a obtener. Asegúrese de utilizar agujas desechables. El tamaño de la aguja depende del lugar de donde se vaya a extraer la sangre. Para extraer sangre de la vena del ala se utilizan agujas de calibre 20 ó 22, de 1 /2 a 1 pulgada. Para una punción intro-cardiaca se necesitan agujas de calibre 18 a 20 de 1 1 /2 pulgadas. Las agujas se deben cambiar frecuentemente. Las agujas sin filo causan trauma en los tejidos y hacen más difícil la punción exacta en las venas. Todo el equipo que se utilice para la extracción de sangre debe ser cambiado de lote a lote para eliminar la posibilidad de propagar enfermedades. Se deben enjuagar las agujas y las jeringas con agua destilada entre ave y ave para prevenir que las agujas se tapen con sangre coagulada. Se deben utilizar tubos de sangre estériles de tres ml. (cc), ya sea de plástico o de vidrio con tapas herméticas para guardar la sangre mientras se coagula y para almacenar las últimas muestras de suero.

Métodos usados para extraer muestras de sangre de las aves.

1. El método por medio del ala. La vena branquial del ala es aceptable para extraer la muestra de sangre de las aves de más de cuatro semanas de edad. En las aves más jóvenes las venas son demasiado pequeñas para una extracción de sangre eficiente. Esta es una operación que se puede realizar por una sola persona sosteniendo el ave de tal manera que se tomen ambas alas a los codos con una mano, mientras que la jeringa se toma con la otra mano. El punto de penetración de la aguja debe ser cabal en medio entre el codo y las coyunturas del hombro. La aguja se debe alinear con la vena

branquial y con cuidado de introducir la aguja primero dentro de la piel y luego en la vena. La punta de la aguja debe apuntar hacia la punta del ala para tomar ventaja del hecho que la sangre corre de regreso hacia el corazón, lo cual facilita la extracción de la sangre en la jeringa. El ángulo de la aguja debe apuntar hacia arriba. Si la aguja está dentro de la vena, la jeringa se llenará de sangre con un mínimo jalón del succionador de la jeringa. Si el succionador se jala con demasiada fuerza, se creará suficiente presión negativa que hará que la vena sufra un colapso y pare la entrada de la sangre en la aguja. Cuando la sangre no pasa a la jeringa con facilidad, es porque la aguja no está en la vena o porque está tapada. La sangre debe ser extraída lentamente hacia la jeringa para evitar dañar la sangre. Es común que se forme un hematoma o un coágulo de sangre en el área de la inyección. Cuando se saque la aguja de la vena, la presión con el dedo sobre el sitio de la inyección promoverá una coagulación rápida. Si se forma un hematoma antes de haber obtenido suficiente cantidad de sangre, puede que sea necesario parar y tratar de hacerlo en el ala opuesta. Una vez que se forma un hematoma es prácticamente imposible ver la vena.

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

e-mail: microclin@microclin.com

2. Punción de la vena del ala con una navaja de escalpelo. Este es un método muy fácil y probablemente el más rápido para obtener sangre de la vena del ala. Se utiliza una navaja de escalpelo número 11 en un escalpelo # 3 ó # 4 para cortar la vena branquial justamente arriba de la coyuntura del codo. Se debe usar un tubo para guardar la sangre mientras ésta sale por la cortada. La utilización de este método puede resultar en una muestra contaminada con bacteria o con moho. Si se limpia la piel con alcohol antes de hacer el corte, se podrá limitar la contaminación. El uso de este método puede causar un trauma significativo al ave, según sea el tamaño de la cortada, y también se corre un alto riesgo de dañar la vena branquial y el nervio.

3. Punción cardiaca - método anterior. La punción cardiaca o el desangramiento del corazón es un método efectivo y rápido para extraer sangre. Con esta técnica se corre el riesgo de causar una hemorragia fatal, pero este riesgo disminuye a base de práctica. Se prefiere el método de la punción cardiaca para obtener un gran volumen de muestras de sangre (4 a 10 ml.).

Este método es aceptable para aves jóvenes y adultas. Esta técnica es realizada por una sola persona la cual sostiene el ave por las dos patas con una mano, mientras opera la jeringa con la otra mano. La posición apropiada del ave es recostada con la cabeza extendida sobre la orilla de la mesa (o de la jaula, o de la rodilla). Usando el dedo índice como guía, la aguja es introducida en la cavidad torácica en el punto más alto de la V invertida que se forma por la clavícula (el hueso de la suerte) (vea la foto). La aguja se mantiene en el mismo plano que el esternón y con un ángulo hacia atrás de la cola. Normalmente se introduce la aguja completa (1 1/2 pulgadas) antes de llegar al corazón. Mientras se introduce la aguja se aplica una presión negativa ligera. Cuando la aguja entra en el corazón, la sangre corre fácilmente hacia la jeringa. Cuando la aguja está en mala posición, sin estar en el mismo plano que el esternón, entonces entra en el tracto respiratorio del ave y entra aire en la jeringa, resultando en muerte por hemorragia en el tracto respiratorio.

4. Punción cardiaca - método lateral. Un método alternativo a la punción intra cardiaca es por medio de la pared izquierda del tórax. Normalmente, esta es una operación realizada por dos personas en la cual la persona que sostiene el ave acuesta al ave sobre la mesa sobre su costado derecho, tomando las dos patas con una sola mano y las dos alas con la otra.

Las marcas son señaladas por los canales que se forman a la orilla del músculo (pectoral) de la pchuga. En esta área se pueden sentir las costillas. El punto para introducir la aguja es de aproximadamente 2 pulgadas verticales del punto del esternón. Se sostiene la aguja a un ángulo de 90° del plano del esternón. La posición adecuada del ave es esencial para obtener resultados consistentes con este método.

Manipulación de la muestra de sangre. Una vez que se ha obtenido la sangre en la jeringa, se debe colocar cuidadosamente dentro de un tubo para permitir que se coagule (tubo de coagulación). Un coágulo ocurre cuando todas las células de la sangre se unen por el proceso de coagulación y se separa de la porción líquida de la sangre (suero). La aguja debe ser removida de la jeringa antes de que la sangre sea vertida en el tubo de coagulación. El forzar la sangre a través de la aguja puede dañar las células de la sangre y resultar en una muestra de mala calidad. Para limitar el daño de los glóbulos rojos de la sangre, se debe inyectar la muestra de sangre lentamente en el tubo para que corra hacia abajo por la pared del tubo. La sangre se debe poner en el tubo de coagulación antes de que empiece la coagulación. No toque los tubos mientras que el proceso de coagulación esté ocurriendo. Los tubos se deben mantener en una posición casi plana (horizontal) para maximizar la superficie del área del coágulo mientras que éste se forma. La cantidad de suero que se obtiene de la sangre coagulada depende de la superficie del área del coágulo. Un tubo que se sostiene en posición vertical tiene una superficie muy pequeña y produce solamente una pequeña cantidad de suero.

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

e-mail: microclin@microclin.com

Un sostenedor de tubos es de gran ayuda para mantener los tubos en esta posición plana. Si no se tienen disponibles los sostenedores de tubos, entonces se puede usar un pedazo de madera al que se le taladran agujeros del tamaño apropiado. El tiempo que se requiere para la coagulación depende de la temperatura del aire en donde se mantienen los tubos. La temperatura ideal para la formación de la coagulación es de 80 a 100 °F. En esta temperatura la separación del suero será completada en 12 a 18 horas. En temperaturas más frescas, el proceso de coagulación es más lento y la extracción del suero es reducida. Si las muestras de sangre son expuestas a altas temperaturas por largos períodos de tiempo pueden ser dañadas y están sujetas a una mayor contaminación bacterial. Esto puede ocurrir dejando las muestras de sangre en un auto cerrado durante los meses de calor. El suero contaminado con bacteria o con moho tiene apariencia nebulosa, pegajosa y con partículas sólidas caseosas. Estos microorganismos se alimentan de los anticuerpos en el suero y pueden reducir significante-mente la cantidad de anticuerpos medidos en el laboratorio. Las muestras de sangre no deben ser expuestas a la luz directa del sol. La sangre coagulada no se debe congelar. Las muestras de sangre no se deben de agitar ni de rodar. Si las muestras de sangre son manipuladas sin cuidado, el suero contendrá pigmentos de glóbulos rojos rotos. Este proceso se llama hemólisis y hace que el suero se vea de un color rojo o rosado. La hemólisis interfiere con las pruebas de laboratorio que miden los anticuerpos. **No envíe por correo muestras con sangre coagulada que todavía esté en los tubos ya que puede ocurrir una hemólisis significativa en el camino al laboratorio.**

Obteniendo y manipulando las muestras de suero

Después de que la sangre se ha coagulado, se puede vaciar el suero del tubo de coagulación a otro tubo, o se puede sacar el coágulo cuidadosamente del tubo con un palillo, dejando solo el suero en el tubo. El coágulo se debe manipular cuidadosamente durante el proceso de la separación del suero. Una muestra de suero de buena calidad debe ser clara con un ligero color amarillo. Las muestras nebulosas, pegajosas, o con hemólisis no se deben mandar al laboratorio.

Envío de las muestras de suero al laboratorio

Una vez que se ha separado el suero del coágulo, se debe de mantener fresco y debe mandarse inmediatamente al laboratorio. El suero no debe ser congelado si las pruebas de laboratorio van a hacerse en unos días. Los tubos que contienen muestras de suero de aves individuales deben estar bien tapados, y organizados por lote, en bolsas de plástico con cierre hermético. Para enviar las muestras por correo se deben usar contenedores de espuma de polietileno que contengan bolsas de enfriamiento. Es mejor no enviar las muestras por correo los jueves o los viernes para evitar que la entrega al laboratorio sea durante el fin de semana. El suero que va a ser almacenado por largos períodos de tiempo, debe ser congelado. La calidad de las muestras de suero recibidas por el laboratorio son el primer paso importante para obtener resultados serológicos precisos, que ayudan al avicultor a tomar decisiones con respecto a las prácticas de manejo y a los programas de vacunación. Muchas veces la mala calidad de las muestras afectan en forma adversa la precisión de los resultados del laboratorio, lo cual es una pérdida de tiempo, dinero y esfuerzo ya que causan interpretaciones incorrectas.

Pasos esenciales para obtener una buena muestra de suero:

1. Seleccione a aves normales representativas del lote (de 10 a 12).
2. Extraiga de 2 a 3 ml. de sangre.
3. Las muestras obtenidas con una aguja son más limpias que las obtenidas con un escalpelo.
4. No dañe las muestras al forzarlas por la aguja hacia el tubo de coagulación.
5. Haga que la sangre corra por las paredes del tubo de coagulación y posicione los tubos horizontal-mente hasta que el coágulo esté formado.

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

e-mail: microclin@microclin.com

6. Deje la sangre en el tubo de coagulación por 10 a 12 horas, a aproximadamente 80° F.
7. No agite las muestras. Manéjelas con cuidado. No congele la sangre mientras el coágulo se esté formando ya que puede ocurrir una hemólisis del suero.
8. Remueva el coágulo cuidadosa-mente, o vacíe el suero.
9. No envíe las pruebas por correo sin antes haber removido el coágulo.
10. Mantenga las muestras del suero frescas y envíelas inmediatamente al laboratorio.

No envíe muestras al laboratorio que demuestren lo siguiente:

1. Contenga menos de .5 ml. (cc.) de suero.
2. Estén excesivamente con hemólisis (rojas).
3. No se haya removido el coágulo.
4. Estén nebulosas, pegajosas o con partículas caseosas.

Edad en que se debe obtener la muestra de sangre:

1. 10 a 12 semanas
2. Durante la transferencia.
3. Cada 10 ó 12 semanas durante la producción de huevos.

Una Publicación de Hy-Line International 2929 Westown Parkway □ Box 65190 West Des Moines, Iowa 50265 USA □ (515) 225-6030 Marca Registrada de Hy-Line International, West Des Moines, Iowa U.S.A. Impreso en los Estados Unidos

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

e-mail: microclin@microclin.com