



Universidad Austral de Chile

Conocimiento y Naturaleza

Fernando G. Wittwer (ed.)

Manual de Patología Clínica Veterinaria

Ediciones  UACH

Colección Austral Universitaria de Ciencias Silvoagropecuarias

Esta tercera edición en 500 ejemplares de

MANUAL DE PATOLOGÍA CLÍNICA VETERINARIA

de Fernando G. Wittwer (ed.)
se terminó de imprimir en marzo de 2021
en los talleres de Maval

 (2) 2566 5400
www.mavalchile.com
para Ediciones Universidad Austral de Chile

 (56-63) 2444338
www.edicionesuach.cl
Valdivia, Chile

Dirección editorial
Yanko González Cangas

Cuidado de la edición
César Altermatt Venegas

Diseño y maquetación
Silvia Valdés Fuentes

Todos los derechos reservados.
Se autoriza su reproducción parcial para fines periodísticos
debiendo mencionarse la fuente editorial.

© Universidad Austral de Chile, 2021
© de los autores, 2021

ISBN: 978-956-390-151-1

PRIMERA EDICIÓN:
Universidad Austral de Chile, 1983, reimpreso 1986
SEGUNDA EDICIÓN:
Universidad Austral de Chile, 2012

A mi amada esposa Verónica (Q.E.P.D.).

*A mis hijos Fernando Javier, Carlos Enrique
y Patricia.*

*A toda mi familia por su apoyo y motivación en
mi desarrollo profesional y académico.*

Contenido

Prefacio.....	15
----------------------	-----------

Capítulo 1. Conceptualización de la Patología Clínica.....	17
---	-----------

Fernando G. Wittwer

1.1 Generalidades.....	17
1.2 Muestra.....	18
1.2.1 Características de las muestras.....	19
1.2.2 Solicitud de análisis clínico.....	20
1.2.3 Variación en la composición y calidad de las muestras.....	20
1.2.4 Muestras de sangre	22
1.3 Análisis.....	25
1.3.1 Tipo de análisis.....	25
1.3.2 Control de calidad de análisis clínicos.....	26
1.3.3 Errores de laboratorio.....	27
1.3.4 Validación de técnicas analíticas.....	28
1.4 Intervalo de referencia.....	30
1.4.1 Factores de variación.....	30
1.4.2 Concepto y determinación	31

1.5 Unidades usadas en Patología Clínica.....	36
1.5.1 Unidades.....	36
1.5.2 Sistema Internacional de Unidades (S.I.).....	36
1.6 Interpretación de análisis clínicos.....	38
1.6.1 Uso del intervalo de referencia (IR).....	38
1.6.2 Límite de decisión.....	41
1.6.3 Comparación con valor previo del mismo individuo.....	41
1.6.4 Interpretación de resultados cualitativos.....	43
1.6.5 Consideraciones en la interpretación de los análisis clínicos.....	45
1.6.6 Perfiles analíticos.....	46
1.6.7 Interpretación de análisis clínicos en grupos de animales.....	47
1.7 Ejercicios.....	48
1.8 Bibliografía recomendada.....	53

Capítulo 2. Hematología Clínica.....	55
---	-----------

Fernando G. Wittwer y Armando S. Islas

2.1 Introducción.....	55
2.2 Análisis clínico de los eritrocitos.....	61
2.2.1 Características de los eritrocitos.....	61
2.2.2 Exámenes de los eritrocitos para uso clínico.....	61
2.2.3 Interpretación clínica del eritrograma.....	68
2.2.4 Clasificación morfológica de las anemias.....	70
2.3 Análisis clínico de los leucocitos.....	73
2.3.1 Características de los leucocitos.....	73
2.3.2 Exámenes de los leucocitos para uso clínico.....	78
2.3.3 Interpretación clínica del leucograma.....	81

2.4 Consideraciones para la interpretación del hemograma.....	87
2.5 Hemostasia.....	89
2.5.1 Primera fase.....	89
2.5.2 Segunda fase.....	91
2.5.3 Tercera fase.....	95
2.5.4 Evaluación de la hemostasia.....	95
2.6 Grupos sanguíneos.....	98
2.6.1 Características de los grupos sanguíneos en especies domésticas.....	99
2.6.2 Transfusión de sangre.....	99
2.7 Neoplasias hematopoyéticas.....	101
2.7.1 Linfoma maligno o linfosarcoma.....	101
2.7.2 Leucemias linfocíticas.....	104
2.7.3 Leucemias mieloproliferativas.....	105
2.7.4 Síndrome mielodisplásico (SMD).....	106
2.8 Ejercicios.....	107
2.9 Bibliografía recomendada.....	112

Capítulo 3. Bioquímica Clínica.....113
Fernando G. Wittwer y Ricardo H. Chihuailaf

3.1 Introducción.....	113
3.2 Glúcidos.....	115
3.2.1 Glucosa (Glucemia).....	115
3.2.2 Ceto-aminas: fructosamina y hemoglobina glucosilada.....	116
3.2.3 Ácido láctico (Lactacidemia).....	116
3.3 Lípidos y cuerpos cetónicos.....	117
3.3.1 Triacilglicerol (Triacilglicerolemia).....	118
3.3.2 Colesterol (Colesterolemia).....	119
3.3.3 Ácidos grasos no esterificados (NEFA, FFA o AGNE).....	119

3.3.4 Cuerpos cetónicos (CC) (Cetonemia).....	120
3.4 Proteínas plasmáticas.....	121
3.4.1 Proteínas totales o Proteinemia.....	121
3.4.2 Albúmina (Albuminemia).....	122
3.4.3 Globulinas (Globulinemia).....	122
3.4.4 Razón albúmina/globulina (A/G).....	123
3.4.5 Proteínas de fase aguda (PFA).....	123
3.5 Metabolitos nitrogenados no proteínicos.....	125
3.5.1 Urea o N-ureico (NUS o BUN).....	125
3.5.2 Creatinina (Creatininemia).....	126
3.6 Elementos minerales.....	127
3.6.1 Calcio (Ca) (Calcemia).....	127
3.6.2 Fosfato inorgánico (P o Pi) (Fosfatemia).....	128
3.6.3 Magnesio (Mg) (Magnesemia).....	129
3.6.4 Sodio (Na) (Natremia).....	130
3.6.5 Potasio (K) (Kalemia).....	131
3.6.6 Cobre (Cu) (Cupremia).....	131
3.6.7 Zinc (Zn) (Zinquemia).....	132
3.6.8 Selenio (Se).....	132
3.6.9 Hierro (Fe) (Ferremia).....	133
3.7 Enzimas de interés clínico.....	133
3.7.1 Bases de la enzimología clínica.....	134
3.7.2 Enzimas celulares de interés clínico.....	138
3.7.3 Otras enzimas sanguíneas de interés clínico.....	140
3.8 Hormonas.....	140
3.8.1 Insulina.....	141
3.8.2 Tiroxina (T_4) y Triyodotironina (T_3).....	142
3.8.3 Cortisol.....	142
3.8.4 Progesterona o P_4	143
3.9 Perfil bioquímico.....	143
3.9.1 Perfil bioquímico sanguíneo.....	144
3.10 Bibliografía recomendada.....	146

Capítulo 4. Pruebas de funcionalidad de órganos.....	147
Fernando G. Wittwer, Armando S. Islas y Ananda Müller	
4.1 Funcionalidad hepática.....	147
4.1.1 Enzimas para detectar lesión hepato celular.....	148
4.1.2 Pruebas para detectar colestasis.....	150
4.1.3 Pruebas para detectar disminución de la masa funcional hepática.....	153
4.1.4 Pruebas complementarias.....	154
4.1.5 Interpretación de las pruebas hepáticas.....	155
4.2 Funcionalidad pancreática exocrina.....	156
4.2.1 Pancreatitis e insuficiencia pancreática exocrina (IPE).....	156
4.2.2 Pruebas de evaluación.....	157
4.3 Evaluación de la digestión y absorción intestinal.....	159
4.3.1 Sangre oculta en heces.....	159
4.3.2 Prueba de absorción de lípidos.....	159
4.3.3 Prueba de absorción de D-xilosa.....	160
4.4 Funcionalidad renal.....	160
4.4.1 Enfermedad renal (ER).....	160
4.4.2 Evaluación de la función renal.....	161
4.4.3 Examen de orina o uroanálisis.....	165
4.5 Evaluación muscular.....	173
4.5.1 Evaluación de daño de miocitos.....	173
4.5.2 Evaluación de la actividad muscular.....	175
4.6 Balance hidrosalino y de electrolitos.....	175
4.6.1 Agua.....	176
4.6.2 Electrolitos: Na y K.....	176
4.7 Evaluación del equilibrio ácido-base en la sangre.....	177

4.7.1 Generalidades del equilibrio ácido-base en la sangre.....	177
4.7.2 Disturbios ácido-base en la sangre.....	180
4.7.3 Obtención de muestra y análisis por gasometría sanguínea.....	182
4.7.4 Interpretación de los disturbios ácido-base en la sangre.....	183
4.8 Funcionalidad endocrina.....	185
4.8.1 Páncreas endocrino.....	185
4.8.2 Función de tiroides.....	187
4.8.3 Función adrenal.....	188
4.9 Ejercicios.....	189
4.10 Bibliografía recomendada.....	200

Capítulo 5. Evaluación de enfermedades de origen metabólico y carencial en animales de producción.....

Fernando G. Wittwer, Pilar C. Sepúlveda y Ricardo H. Chihuailaf	
5.1 Enfermedades de origen metabólico y carencial.....	201
5.1.1 Introducción.....	201
5.1.2 Enfermedades de la producción.....	201
5.1.3 Estrés metabólico en el período de transición.....	202
5.2 Alteraciones del metabolismo energético.....	203
5.2.1 Generalidades.....	203
5.2.2 Características del metabolismo energético en rumiantes.....	204
5.2.3 Alteraciones producidas por el balance energético negativo (BEN), cetosis subclínica y clínica.....	205

5.2.4 <i>Lipidosis hepática</i>	208
5.3 Alteraciones del metabolismo de las proteínas.....	209
5.3.1 <i>Características del metabolismo de las proteínas dietéticas en rumiantes</i>	209
5.3.2 <i>Impacto de los desbalances nutricionales proteínicos en el sistema lechero</i>	210
5.3.3 <i>Monitoreo de las alteraciones asociadas a las proteínas dietéticas</i>	210
5.4 Alteraciones del metabolismo mineral.....	211
5.4.1 <i>Metabolismo, requerimientos y carencia mineral</i>	211
5.4.2 <i>Alteraciones del metabolismo del calcio</i>	212
5.4.3 <i>Alteraciones del metabolismo del fósforo</i>	214
5.4.4 <i>Alteraciones del metabolismo del magnesio</i>	214
5.4.5 <i>Generalidades sobre minerales traza y vitaminas</i>	215
5.4.6 <i>Carencia de elementos traza y vitaminas</i>	216
5.5 Funcionalidad del rumen y alteraciones de su función.....	218
5.5.1 <i>Análisis del líquido ruminal (L-Rum)</i>	218
5.5.2 <i>Acidosis ruminal sub-aguda, SARA</i>	221
5.5.3 <i>Diagnóstico de SARA mediante el pH del líquido ruminal</i>	222
5.6 Evaluación metabólica y su relación con la salud de animales de producción mediante perfiles metabólicos (PM).....	223
5.6.1 <i>Evaluación de riesgo</i>	224
5.6.2 <i>Prospección diagnóstica</i>	226
5.6.3 <i>Interpretación</i>	231
5.6.4 <i>Resultados en Chile</i>	233
5.7 Ejercicios.....	234

5.8 Bibliografía recomendada.....	240
-----------------------------------	-----

Capítulo 6. Análisis de fluidos.....241

Fernando G. Wittwer y M. Carolina Escobar

6.1 Generalidades.....	241
6.2 Fluidos torácico y abdominal.....	242
6.2.1 <i>Toracocentesis</i>	243
6.2.2 <i>Abdominocentesis</i>	243
6.2.3 <i>Trasudados</i>	243
6.2.4 <i>Exudados</i>	245
6.2.5 <i>Efusiones con características especiales</i>	246
6.3 Fluido sinovial (FS).....	247
6.4 Fluido cerebro espinal (FCE).....	248
6.5 Humores acuoso y vítreo.....	250
6.6 Orina.....	250
6.6.1 <i>Examen de orina o uroanálisis</i>	251
6.6.2 <i>Hallazgos extra renales del examen de orina</i>	251
6.7 Leche.....	252
6.7.1 <i>Examen físico</i>	252
6.7.2 <i>Examen químico</i>	253
6.7.3 <i>Examen citológico o recuento de células somáticas</i>	254
6.7.4 <i>Examen microbiológico</i>	256
6.8 Ejercicios.....	256
6.9 Bibliografía recomendada.....	259

Capítulo 7. Citodiagnóstico.....261

Fernando G. Wittwer y M. Carolina Escobar

7.1 Generalidades.....	261
------------------------	-----

7.2 Aproximación diagnóstica de la muestra citológica.....	263
7.2.1 Tipos de diagnóstico citológico.....	263
7.3 Citodiagnóstico de masas y órganos.....	264
7.3.1 Citodiagnóstico de masas neoplásicas.....	264
7.3.2 Citodiagnóstico de órganos internos.....	266
7.3.3 Citodiagnóstico de linfonodos.....	267
7.4 Citología exfoliativa.....	268
7.4.1 Citología vaginal.....	268
7.4.2 Citología ótica.....	269
7.4.3 Citología bronco alveolar.....	270
7.5 Citología de fluidos.....	270
7.6 Ejercicios.....	271
7.7 Bibliografía recomendada.....	273

Capítulo 8. Diagnóstico molecular.....275
Ananda Müller y Pedro Bittencourt

8.1 Generalidades.....	275
8.2 Técnicas aplicadas al diagnóstico molecular..	276
8.2.1 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)...	276
8.2.2 Variaciones de la PCR.....	280
8.2.3 Secuenciación.....	282
8.3 Uso de la biología molecular aplicada al diagnóstico de enfermedades infecciosas y parasitarias.....	283
8.3.1 Obtención de muestras.....	283
8.3.2 Implementación de protocolos y controles de calidad.....	284
8.3.3 Interpretación de los resultados.....	285
8.4 Uso de la oncología molecular en medicina veterinaria.....	285

8.5 Uso de la biología molecular en la producción animal.....	286
8.5.1 Uso de la genética molecular en la reproducción animal.....	287
8.5.2 Uso de herramientas de biología molecular aplicadas a la investigación en producción animal.....	289
8.6 Ejercicios.....	290
8.7 Bibliografía recomendada.....	292

Abreviaciones utilizadas.....293

Índice de palabras.....297

Agradecimientos.....303

Anexos.....305

Anexo 1. Muestras de sangre para análisis clínicos en animales.....	307
Anexo 2. Intervalos referenciales hematológicos en animales de granja.....	309
Anexo 3. Intervalos referenciales hematológicos en equinos, caninos y felinos.....	311
Anexo 4. Intervalos referenciales hematológicos en aves.....	313
Anexo 5. Intervalos referenciales hematológicos en salmónidos.....	314
Anexo 6. Intervalos referenciales bioquímicos sanguíneos en animales de granja.....	315

Anexo 7. Intervalos referenciales bioquímicos sanguíneos en equino, canino y felino.....	317
Anexo 8. Intervalos referenciales bioquímicos sanguíneos en aves.....	319
Anexo 9. Intervalos referenciales bioquímicos sanguíneos en salmónidos.....	321
Anexo 10. Factores de conversión al sistema internacional de unidades (S.I.).....	323
Anexo 11. Perfiles bioquímicos sanguíneos en caninos y felinos.....	325
Anexo 12. Perfiles bioquímicos sanguíneos en equinos.....	327
Anexo 13. Perfiles bioquímicos sanguíneos en rumiantes.....	329
Anexo 14. Perfiles bioquímicos sanguíneos en aves.....	331
Anexo 15. Perfiles bioquímicos sanguíneos en salmonídeos.....	332
Anexo 16. Figuras en color.....	335

Prefacio

La construcción, a lo largo del tiempo, del texto que presentamos aquí reeditado ha tenido siempre como aspiración principal ser un instrumento de apoyo y utilidad para el estudiante, graduado y médico veterinario, como elemento de consulta sobre la Patología Clínica Animal, facilitándoles conocer, comprender, aplicar e interpretar los análisis de laboratorio en su ejercicio profesional.

Teniendo como referencia esta fase, el texto que presentamos está estructurado en ocho capítulos, en los que se abordan jerárquica y sistemáticamente los temas vinculados a la Patología Clínica. De este modo, en el primer capítulo son considerados los aspectos generales de la disciplina, las muestras, el análisis clínico, el control de calidad, los límites de referencia, las unidades e interpretación clínica de resultados. Seguidamente, en el segundo capítulo, dedicado a la Hematología, está descrita la hematopoyesis, los análisis clínicos de los eritrocitos y de los leucocitos, la hemostasia y coagulación, grupos sanguíneos y neoplasias hemopoyéticas. El tercer

capítulo, Bioquímica Clínica, sistematiza la utilidad clínica de la determinación de glúcidos, lípidos, proteínas, elementos nitrogenados no proteicos, minerales, enzimas y hormonas. En el cuarto capítulo, se abordan las pruebas de funcionalidad de hígado, páncreas, renal, muscular, hidrosalino, ácido-base y endocrino.

Si bien la mayoría de los textos hace referencia a la Patología Clínica de animales de compañía y deporte, ha existido de igual manera un crecimiento sostenido de su empleo en animales, aves y peces del ámbito productivo, especialmente en la medicina preventiva de rebaños. En esta edición, el capítulo cinco incorpora la evaluación de las enfermedades de origen metabólico y carencial en animales de producción, entregando antecedentes referidos a estas alteraciones asociadas al metabolismo energético, de las proteínas y minerales en los rumiantes así como de su función ruminal.

En el capítulo seis, Análisis de fluidos, se atiende a la problemática del análisis clínico de los fluidos torácico, abdominal, sinovial, cerebro espinal, humores acuoso y vítreo, orina y leche. Seguidamente, en el capítulo siete, dedicado al Citodiagnóstico, es considerada la aproximación diagnóstica de muestras y la citología de masas y órganos, exfoliativa y de fluidos.

El último capítulo incorpora en esta edición los conceptos de Diagnóstico molecular, presentando las técnicas aplicadas y su empleo en el diagnóstico de enfermedades infecciosas y parasitarias, en la oncología veterinaria y en la producción animal.

Finalmente, el texto incluye Anexos con intervalos de referencia y perfiles bioquímicos para especies de interés en veterinaria, así como también, al final de cada capítulo, la presentación y análisis de casos clínicos.

En esta tercera edición se incorporan como coautores seis destacados profesionales del área de la Patología Clínica. El Dr. Armando Islas, con quien compartimos el desarrollo de esta disciplina en el país, participa en los capítulos de Hematología Clínica y Pruebas de funcionalidad de órganos. El Dr. Ricardo Chihuailaf y la Dra. Pilar Sepúlveda-Varas, han desarrollado su actividad académica en el área de la medicina de rebaños y trastornos metabólicos en rumiantes, colaboran como coautores en el capítulo de Bioquímica Clínica el primero, y ambos en el de Evaluación de enfermedades de origen metabólico y carencial en animales de producción. La Dra. Carolina Escobar, con su especialidad y experiencia en citodiagnóstico en animales de compañía, participa en los capítulos de Análisis de fluidos y Citodiagnóstico. La Dra. Ananda Müller y el Dr. Pedro Bittencourt, de origen y formación académica en Brasil, han destacado en el uso de técnicas moleculares para el diagnóstico de enfermedades en animales domésticos y silvestres en Chile, es así que ella colabora en el capítulo de Pruebas de funcionalidad de órganos y ambos como autores del capítulo sobre Diagnóstico molecular. La incorporación de estos profesionales ha permitido actualizar y profundizar los contenidos propios de la disciplina y junto a ello desarrollar dos nuevos capítulos que acogen las inquietudes manifestadas por médicos veterinarios,

uno en relación a los trastornos metabólicos en rumiantes y el otro con la utilidad diagnóstica de las técnicas moleculares.

Capítulo 1

Conceptualización de la Patología Clínica

Fernando G. Wittwer¹

1.1 Generalidades

La Patología Clínica es la ciencia que aporta los conocimientos necesarios para el empleo de los análisis clínicos destinados a evaluar la condición fisiológica del paciente en la práctica clínica y en el estudio de las enfermedades de los animales domésticos. Se consideró inicialmente como partes de esta disciplina la Hematología Clínica, Bioquímica Clínica y Análisis de fluidos, posteriormente se incorporó el Citodiagnóstico y en los últimos años aspectos asociados al empleo de técnicas moleculares en el diagnóstico y estudio de las enfermedades.

.....
¹ Médico Veterinario, Master Veterinary Sciences. Profesor Titular* del Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. Profesor Adjunto, Facultad de Recursos Naturales y Medicina Veterinaria, Universidad Santo Tomás. Premio H Sommer por su contribución a la Patología Clínica, International Society for Animal Clinical Pathology, 2012.

Los análisis clínicos son aquellos que se efectúan sobre muestras biológicas provenientes de individuos en evaluación clínica y que han sido obtenidas en el ejercicio de la medicina veterinaria. Estos análisis permiten definir cambios cualitativos o cuantitativos en tejidos o fluidos respecto a una condición patrón considerada como de referencia, y a través de ellos, evaluar la condición de salud del paciente, y en caso de presentar alteración, definir su tipo, magnitud y órganos afectados.

Mediante ellos se investiga la presencia, cuantía o características de una sustancia, célula u otro elemento que pasa a denominarse «analito» en un fluido biológico procedente de un paciente o rebaño.

Para describir el analito determinado en el laboratorio deben relacionarse cuatro conceptos: el elemento o componente químico evaluado (ej. glucosa); el medio en que se encuentra el componente (orina, sangre, plasma u otro); su magnitud (número, volumen, actividad o concentración) y la unidad en que se expresa (g/L, mmol/L, U/L, etc.). Ej. Glucosa sérica = 5,5 mmol/L.

Los análisis clínicos constituyen una valiosa ayuda al médico veterinario en su desempeño profesional clínico y científico. Para un adecuado empleo el profesional debe: a) tener un objetivo que justifique la solicitud del análisis; b) conocer las bases del analito a medir; y c) obtener conclusiones que sean un real aporte al caso clínico.

Objetivos de los análisis clínicos

Toda solicitud de análisis clínico debe responder a un objetivo claro y explícito, como ser:

- ✓ Distinguir una situación normal de una patológica
- ✓ Precisar el grado de la alteración orgánica y severidad de una afección
- ✓ Aportar información contribuyendo al diagnóstico clínico
- ✓ Definir el pronóstico de la enfermedad
- ✓ Definir una terapia a ser instaurada y comprobar su eficacia
- ✓ Evaluar el curso y la evolución de un cuadro clínico
- ✓ Evaluar las respuestas biológicas y productivas en ensayos o investigaciones en salud y bienestar animal

Como se aprecia, los análisis clínicos entregan al veterinario información que le permite evaluar la condición de salud del individuo, además de definir el diagnóstico de la enfermedad, motivo que lleva a denominar «Laboratorio de análisis clínicos» la dependencia donde estos se realizan. Este nombre mejora la antigua denominación de «Laboratorio de Diagnóstico Veterinario» que limitaba su campo de acción a la sola ejecución de análisis de carácter cualitativo orientado a la búsqueda de la presencia de un agente causal de enfermedad.

Condiciones para el uso de análisis clínicos

Para el correcto uso de un análisis clínico se precisa tener información de cada analito a ser medido. Esta información presentada secuencialmente hace referencia a seis aspectos (C-I-M-A-C-I):

* **Conocimiento.** Disponer del conocimiento fisiológico del analito que se determina, el tejido o fluido en que puede ser medido, la función metabólica que desempeña, como se regula su magnitud y los factores fisiológicos y patológicos que lo modifican.

* **Indicación.** Definir el motivo por el cual es solicitada la determinación de un analito.

* **Muestra.** Conocer la muestra a obtener, sus características, manejo y factores de variación.

* **Análisis.** Disponer de un laboratorio que cuente con un método analítico adecuado y validado.

* **Comparación.** Disponer de patrones de referencia con los cuales comparar la información obtenida.

* **Interpretación.** Obtener una conclusión clínica en respuesta al objetivo por el cual fue solicitado el análisis. Es el médico veterinario quien debe dar la adecuada interpretación de un análisis clínico y obtener a partir de ella la conclusión pertinente, para la cual dispone del historial clínico del paciente o del rebaño.

1.2 Muestra

La muestra es una porción representativa de un fluido o tejido obtenido de un animal o rebaño en un estudio clínico o experimental. Para que la muestra sea reflejo del estado de salud o enfermedad del animal se requiere que sea «representativa», vale decir, lo más similar posible en composición y estructura al fluido o tejido del que se obtuvo, y que el animal

no esté alterado por el proceso de muestreo o por condiciones ajenas al motivo de estudio.

Previo a la obtención de una muestra es recomendable que el veterinario contacte a un laboratorio con el objetivo de conocer las posibilidades de ejecución de un determinado análisis y las características de la muestra.

Las características de las muestras son su tipo, volumen, duración, requerimiento de aditivos preservantes, interferencias producidas por sustancias que alteran el análisis y su manipulación y transporte.

1.2.1 Características de las muestras

Tipos de Muestras

Tejido o células obtenidas de acuerdo a su ubicación y volumen mediante punción, cánula, hisopado o biopsia quirúrgica. La sangre constituye el tejido más empleado para análisis de laboratorio, siendo también frecuentes las muestras de raspado cutáneo, lavado de mucosas y las de punciones de hígado, ganglios y masas tumorales.

Fluidos de diferentes áreas del cuerpo se pueden obtener para exámenes físico, químico, citológico, bacteriológico u otro. Las más usadas son:

- ✓ Trasudado o exudado: obtenido por toracentesis o abdomenocentesis.
- ✓ Fluido cerebro espinal (FCE).
- ✓ Humor vítreo o acuoso.
- ✓ Fluido sinovial (FS).
- ✓ Secreción nasal, vaginal, lagrimal u otra.

✓ Orina: recién emitida y sin contaminantes.

✓ Leche: proveniente de cuartos individuales o de estanque.

✓ Líquido ruminal (LRUM).

Otros tipos de muestras comúnmente empleados son las de deposiciones para análisis parasitológico, bacteriológico o bioquímico.

Volumen de la muestra

La cantidad de muestra necesaria dependerá del número de análisis a realizar con ella, así como del método analítico a emplear en cada laboratorio. En la actualidad, el volumen requerido por análisis es muy pequeño, menos de 0,1 mL, por lo que con 2 mL de sangre o 1 mL de suero o plasma o fluido es factible realizar numerosos análisis. Por ejemplo, con 0,5 mL de suero o plasma es posible realizar un perfil bioquímico sanguíneo de 10 analitos.

El volumen reducido de muestra para la mayoría de los análisis ha permitido el uso de los análisis clínicos en animales de tamaño pequeño, como roedores, aves y otras especies exóticas y silvestres.

Duración de la muestra

Como principio, el análisis debe ser realizado lo antes posible para disminuir los cambios que se presentan luego de ser obtenida la muestra, los que hacen perder su representatividad. A su vez, la muestra debe ser almacenada a temperatura baja para aumentar su durabilidad. Como norma general los tejidos tienen una duración breve (<1 día) y deben ser refrigerados (0 a 5 °C), pero no congelados, mientras

que los fluidos tienen mayor estabilidad pudiendo ser refrigerados o incluso congelados (-20 °C) por periodos prolongados (seis meses o más).

Uso de aditivos o preservantes

Son sustancias que se adicionan a la muestra con objeto de prolongar su duración al inhibir el metabolismo *in vitro*, la contaminación bacteriana o la coagulación de la sangre. Su uso está indicado según el análisis a realizar y al tipo de muestra. Los más empleados son los anticoagulantes como el EDTA, la heparina y el NaF que, además, es un inhibidor enzimático. También son empleados el hielo, hielo seco, formalina al 10 %, fenol 0,4 - 0,5 %, glicerina 50 %, ácido bórico y alcohol.

Manipulación y transporte

La muestra debe ser adecuadamente identificada, protegida y envasada. Si es despachada por un servicio público debe ser conforme a la reglamentación postal que considera, entre otros aspectos, que no sea peligrosa para la salud del personal, no produzca deterioro a otros paquetes, ser fácil de manipular y que el embalaje sea seguro (protegido de los golpes y envuelta con material absorbente).

1.2.2 Solicitud de análisis clínico

Las muestras deben adjuntar una solicitud de análisis con información referente a:

✓ Identificación del propietario del animal con su dirección y datos para envío de resultados.

✓ Identificación del médico veterinario solicitante y su dirección.

✓ Identificación del animal: especie, raza, sexo, edad, nombre o marca individual, número de caso clínico.

✓ Identificación de la muestra: tipo, fecha de obtención.

✓ Exámenes requeridos.

1.2.3 Variación en la composición y calidad de las muestras

Los factores que afectan la composición y calidad de una muestra son cambios o variaciones que se presentan *in vivo* e *in vitro*. Estos cambios corresponden a las variaciones premetrológicas de un análisis clínico.

Cambios *in vivo*

Corresponden a variaciones que se presentan en la composición del tejido o fluido del animal producto de modificaciones transitorias previas a la obtención de la muestra.

Excitación, ejercicio y el transporte. Liberan adrenalina que modifica la composición sanguínea. Por ejemplo, la aplicación de una maniobra de manejo o sujeción que provoque dolor o tensión en un equino puede originar en dos minutos un aumento del 20 % del hematocrito que persiste por veinte minutos, asociado a una contracción esplénica y liberación de neutrófilos desde el compartimento marginal por vasoconstricción periférica.

Estrés. Induce la liberación de corticoides endógenos modificando la composición sanguínea como ser hiperglucemia y leucocitosis con neutrofilia y linfopenia.

Ingesta de alimentos. Provoca cambios posprandiales que revisten mayor importancia en no-rumiantes, como el incremento de la glucemia y de triacilglicérols posterior a la ingestión de alimentos.

Lugar de obtención. La composición y distribución sanguínea difieren entre la sangre venosa y arterial, así como entre los diferentes lugares de obtención. Por ejemplo, la glucemia es mayor en sangre arterial que venosa; la sangre yugular de la vaca tiene mayor concentración de Ca y Mg (2 - 4 %) y menor de P (14 %) que la vena coccígea.

Forma de obtención. La compresión de la vena facilita la extracción de sangre, pero induce cambios en su composición por lo que debe usarse brevemente. La aspiración muy vigorosa, el uso de agujas muy delgadas o semi bloqueadas o una canulación incorrecta de la vena alteran el flujo de sangre y su composición.

Administración de drogas. El uso de algunos fármacos producen cambios que deben ser considerados al interpretar un resultado. Por ejemplo, los corticoides producen hiperglucemia en perros y un leucograma de estrés.

Cambios *in vitro*

Son modificaciones que se presentan en una muestra posterior a su obtención producto del tiempo transcurrido y de las condiciones de almacenamiento. El factor más importante asociado a la preservación de muestras es la temperatura de almacenamiento por lo que deben ser mantenidas a baja temperatura.

El metabolismo *in vitro* corresponde a los procesos metabólicos celulares que continúan por un tiempo posterior a la obtención de la muestra, modificando su composición química y la morfología celular. Para reducir estos cambios se deben mantener las muestras refrigeradas o congeladas y en las muestras de sangre separar lo antes posible el plasma de los eritrocitos, o el suero del coágulo. La adición de inhibidores enzimáticos minimiza este efecto, por ejemplo, la glucólisis *in vitro* desdobra un 10 % de la glucosa por hora, por lo que se emplea NaF (2 mg/mL) para inhibirla.

Coagulación. Es el mecanismo fisiológico por el cual la sangre pasa del estado líquido al sólido en un plazo de cinco a quince minutos desde su obtención. Para la realización de exámenes en los elementos celulares de la sangre como los hematológicos, así como para algunos bioquímicos se requiere inhibir la coagulación, empleándose para dicho propósito anticoagulantes.

Destrucción celular. Se produce inmediatamente después de remover una parte de un tejido producto de la degeneración de las células, las que van perdiendo sus características y morfología normal llegando finalmente a la autólisis. Hematológicamente debe tenerse presente que a las dos horas comienza la desintegración de los núcleos de los leucocitos. Algunos aditivos como el formol retardan este proceso.

*Hemólisis *in vitro*.* Es la destrucción de eritrocitos de una muestra liberando su contenido al plasma, modificando con ello la concentración de los componentes plasmáticos acorde al diferencial intra-extra celular. Además, la hemoglobina liberada

interfiere reacciones químicas y altera las lecturas en los analizadores. Entre los factores que producen hemólisis están: la congestión, aspiración vigorosa, agitación violenta, contaminación con agua, cambio brusco de temperatura, calor excesivo y congelación.

Contaminación de la muestra. Bacterias u otro material extraño como químicos ambientales, detergentes u otros usados en el lugar de muestreo o en el laboratorio pueden originar resultados falsos positivos o negativos o modificar la composición o estructura de la muestra.

Desecación. Por pérdida de agua aumenta la concentración de solutos de una muestra por lo que debe asegurarse que se mantenga adecuadamente cerrada para evitar la evaporación.

Aditivos. Empleados para preservar una muestra pueden afectar alguna reacción bioquímica entregando resultados falsamente disminuidos o proporcionando resultados falsamente elevados. Por ejemplo, el uso de EDTA quela el Ca, disminuyendo su concentración al ser medido mediante técnicas colorimétricas.

1.2.4 Muestras de sangre

Tipos de muestras de sangre

De acuerdo a los exámenes requeridos se puede obtener muestras de sangre con anticoagulante, plasma o suero (Figura 1.1).²

.....
² Esta Figura, y siguientes, se encuentra en el Anexo 16 Figuras en color.

La sangre con anticoagulante. Es empleado en el estudio de los elementos figurados y para la obtención del plasma. El volumen de la muestra debe ser acorde con la cantidad de anticoagulante presente en el tubo de recolección. Un exceso de sangre provoca coagulación y un volumen pequeño genera crenación de los eritrocitos y dilución de la muestra. Inmediatamente obtenida la muestra, el envase debe ser tapado e invertir ± 15 veces para una adecuada homogenización, de lo contrario se produce coagulación total o parcial.

El plasma corresponde a la parte líquida de la sangre. Se diferencia del suero ya que contiene fibrinógeno. Su uso es similar al suero, con la ventaja de obtenerse más rápido, con menos hemólisis y en mayor volumen, se obtiene centrifugando ($\pm 1.200 \text{ g} \times 10$ minutos) una muestra de sangre con anticoagulante.

El suero es la parte líquida de la sangre expulsada por el coágulo cuando se retrae. Se obtiene dejando reposar una muestra de sangre sin anticoagulante en un lugar temperado, idealmente 37°C , al menos una hora. Para obtener 1 mL de suero se requiere de una muestra de ± 3 mL de sangre sin anticoagulante, dependiendo de la retracción del coágulo. Una retracción nula o insuficiente se presenta con frascos sucios, con espuma en la superficie o se mantienen a temperaturas muy bajas. Solo después de separado el suero del coágulo debe almacenarse refrigerado o congelado.

Volumen

La cantidad de sangre a extraer en una oportunidad será la necesaria para los exámenes a realizar.

En todas las especies es posible obtener sin riesgo para el paciente un volumen de sangre equivalente a 0,8 % de su peso vivo o hasta 10 % de la volemia. Para la mayoría de los exámenes se emplean volúmenes de 1-3 mL de sangre con anticoagulante, o bien, 3-10 mL de sangre para suero o plasma, volúmenes que se pueden reducir a un 50 %, e incluso a un 25 % en animales pequeños o deshidratados.

Anticoagulantes

Los anticoagulantes son sales inorgánicas u orgánicas que inhiben el proceso de la coagulación. Los más utilizados son la heparina, el EDTA, el NaF y el citrato de sodio.

Heparina sódica, potásica o lítica es un anticoagulante natural que inhibe la transformación de protrombina en trombina y tromboplastina. Se usan 10 a 15 UI por mL de sangre (0,75 mg/mL) cuando se desea obtener plasma libre de otros aditivos como el Na o K acorde con la heparina empleada.

EDTA corresponde a la sal di sódica o di potásica del ácido etilendiamino-tetracético, inhibe la coagulación quelando el Ca mediante sus dos radicales ácidos formando un quelato insoluble. Es el anticoagulante de elección para hematología, pues no interfiere en la morfología celular, usándose 1 - 2 mg por mL de sangre.

Fluoruro de sodio, NaF, es una sal que se usa en concentraciones de 2 - 3 mg por mL de sangre inhibiendo la coagulación al quelar el Ca plasmático. Se emplea en muestras para glucemia o lactacidemia, ya que inhibe la glucólisis in vitro.

Citrato de sodio es una sal que inhibe la coagulación

al quelar el Ca plasmático, formando una sal insoluble. Se emplea en solución al 3,8 % en la proporción de 1 mL por 9 mL de sangre en las transfusiones y en muestras para estudios de la coagulación.

Métodos de obtención

Las técnicas de punción venosa o arterial mediante el empleo de tubos con vacío o punción con aguja y jeringa, varían según la especie, el volumen a obtener y la pericia del operador. Para el éxito de la punción venosa es necesario emplear una aguja limpia, de bisel afilado y de tamaño adecuado (18 o 21 G) y seguir secuencialmente el procedimiento, basado en:

- ✓ Sujeción del animal mediante el uso de brete, tijera, bozal u otro.
- ✓ Selección de la vena o arteria a puncionar.
- ✓ Limpieza y desinfección adecuada.
- ✓ Visualización del trayecto del vaso a puncionar, provocando su dilatación mediante presión digital, uso de elástico, otro.
- ✓ Punción en sentido opuesto a la corriente sanguínea.

El uso de tubos al vacío facilita la punción haciéndola más eficiente, rápida y limpia. El sistema está formado por un tubo con tapón de goma y con vacío que recibe la muestra, una aguja de doble punta y un soporte. Hay tubos de diferente tamaño, 2 a 10 mL, sin aditivos (tapa roja) o con anticoagulante, EDTA (tapa lila); heparina (tapa verde); NaF (tapa gris) o citrato (tapa celeste) (Figura 1.2). Hay tubos con gel separador en que, al ser centrifugados, las

células sanguíneas se depositan en el fondo del tubo quedando cubiertas por el gel, y el plasma queda en la capa superior sin el riesgo de que las células se vuelvan a mezclar con este.

Vasos utilizados para punción

Las venas y arterias utilizadas para realizar la punción varían en las diferentes especies animales.

Bovino. Punción venosa se realiza en la yugular, mamaria o coccígea (Figura 1.3A) según el volumen de muestra a obtener, posición y características del animal y de los medios de sujeción que se disponen. La punción arterial se realiza en la arteria marginal de la oreja o carótida.

Ovinos. La punción yugular (Figura 1.3B) constituye el método más adecuado. Se requiere de un asistente que mantenga el animal en posición sentada y con la cabeza flectada. Se debe cuidar de no provocar hemólisis, ya que los eritrocitos de ovino por su pequeño tamaño tienen tendencia a la lisis. También se puede puncionar la vena cefálica. La sangre arterial se obtiene de la arteria carótida.

Equinos. Se emplea la punción yugular (Figura 1.4) con el animal sujeto por un asistente mediante una lazada al cuello. La visualización se hace por presión digital. La sangre arterial se obtiene de la arteria facial o carótida.

Suinos. Corte del pabellón auricular o de la cola para pequeños volúmenes, o punción de la vena cava anterior para una cantidad mayor de sangre.

Caninos. Punción de la vena cefálica (radial) entre el codo y el carpo (Figura 1.5 A) o de la safena (tibial), en

la cara lateral del tercio inferior de la tibia. También se puede puncionar la yugular. Para sangre arterial se utiliza la femoral o la carótida.

Felinos. Punción de la vena yugular (Figura 1.5 B).

Camélidos. Punción de la vena yugular a la altura de la sexta vértebra cervical.

Peces. Para obtener una muestra de sangre los peces deben ser inmovilizados a través del uso de un anestésico, si se desea dejarlos vivos, o por aturdimiento si son sacrificados. El pez debe ser manipulado suavemente para evitar estrés y colocado en un recipiente con la solución anestésica durante 2 a 3 minutos, cuando el pez pierde el equilibrio y presenta escaso movimiento opercular. El aturdimiento se efectúa aplicando un golpe con algún objeto contundente en la unión del cráneo con la espina dorsal, provocando daño en el sistema nervioso central con inmediata parálisis. Por su rápida coagulación y tendencia al hemólisis es importante el uso de una solución anticoagulante en el tubo donde se depositará la muestra e incluso se puede usar la aguja heparinizada. El anticoagulante de elección es la heparina ya que mantiene la muestra por más tiempo sin producir coagulación.

Los lugares de punción pueden ser la punción de la vena caudal: esta es la más utilizada, la aguja se introduce de forma perpendicular al pez, 1 a 2 cm posterior a la aleta anal en sentido ventro dorsal y caudo craneal hasta tocar la columna vertebral, haciendo un suave vacío con el émbolo de la jeringa encontrando la vena paralela al arco hemal de las vértebras (Figura 1.6). Punción cardíaca: vulvis arterioso del corazón, punta de la muesca entre las branquias y el timo. Punción aorta dorsal: se abre la

boca y se punciona en el arco de la segunda branquia. En peces pequeños la muestra puede ser obtenida de la vena caudal cortando el pedúnculo caudal en forma de bisel, y recogiendo la muestra en capilares heparinizados (tubos de hematocrito) evitando al máximo la contaminación.

Aves. Punción de la vena ulnar superficial, metatarsal superficial media o la yugular derecha.

La obtención de fluidos y muestras para citodiagnóstico son tratados en los capítulos 6 y 7 de este libro.

1.3 Análisis

1.3.1 Tipo de análisis

Los análisis clínicos pueden ser agrupados o clasificados en dos categorías según la información que se logra obtener de ellos:

Análisis que evalúan la condición fisiológica del paciente

Establecen cambios cualitativos o cuantitativos en constituyentes celulares, químicos y moleculares de tejidos o fluidos con respecto a patrones de referencia. Permiten evaluar la condición de salud y en caso de presentar una alteración, definir su tipo, su magnitud, así como los órganos afectados.

Hematológicos: establecen cambios en el número, morfología, o propiedades de las células de la sangre, por ejemplo, recuento de leucocitos, hemoglobinemia, hematocrito (ver capítulo 2).

Bioquímicos clínicos: determinan en muestras de tejidos o fluidos la presencia, concentración o actividad de constituyentes bioquímicos, como sustratos (urea, glucosa), enzimas (ALT, AST), electrolitos (Ca, Pi) u hormonas (cortisol). Las técnicas requieren de muestras líquidas por lo que para la sangre se emplea el suero o el plasma, siendo estas las más utilizadas en Bioquímica Clínica (ver capítulos 3, 4 y 5).

Análisis de fluidos: establecen las características físicas, químicas y microscópicas de secreciones como leche u orina o de fluidos orgánicos como el fluido cerebro espinal (FCE), o diferenciar si una muestra de fluido abdominal o torácico corresponde a un trasudado o exudado (ver capítulo 6).

Citodiagnóstico: determina las características y distribución (%) de las células en muestras de tejidos obtenidas mediante punción con aguja fina, raspados o lavados de mucosas. Por ejemplo, diagnóstico de tumores mediante punción de un nódulo linfático, establecer el período del ciclo estral en una perra mediante evaluación de raspado vaginal, diagnóstico de afección respiratoria mediante lavado bronco alveolar (ver capítulo 7).

Análisis moleculares: basadas en la extracción e identificación de ADN en animales de compañía y de granja con el propósito de identificar patógenos, detectar trastornos hereditarios, análisis de filiación genética, así como en el estudio de marcadores moleculares asociados a características genéticas productivas y epidemiológicas (detección de infecciones o propensión a sufrirlas, localización de resistencia a enfermedades) (ver capítulo 8).

Los tres primeros tipos de análisis corresponden a las áreas clásicas de la Patología Clínica, donde a fines del siglo pasado irrumpió con fuerza el área del citodiagnóstico y a inicios de este siglo se ha incorporado las técnicas moleculares asociado al desarrollo científico y tecnológico de esta nueva área. Por ello consideramos que estos cinco tipos de análisis actualmente corresponden a las áreas de la Patología Clínica, por lo que se presentan con mayor detalle en los capítulos 2 a 8 de este texto.

Exámenes que determinan la presencia de un agente patógeno en el animal

Están destinados a establecer un diagnóstico etiológico frente a la sospecha de una enfermedad infecciosa, parasitaria o tóxica. Si bien estos análisis son parte fundamental en el trabajo de un laboratorio de análisis clínico, no se presentan en este libro ya que se encuentran ampliamente descritos en los textos de cada disciplina, con la excepción de los análisis moleculares que se presentan en el capítulo 8.

Parasitológicos: detectan la presencia o cantidad de parásitos en muestras de deposiciones, coproparasitario (ej. McMaster, sedimentación-flotación); examen microscópico de raspado de piel y pelos para diagnóstico de dermatomicosis o sarna o el examen del frotis de sangre para hemoparásitos.

Microbiológicos: identifican la presencia de virus, bacterias u hongos o su sensibilidad frente a agentes quimioterapéuticos en una muestra de tejido o fluido, por ejemplo, cultivo, antibiograma.

Toxicológicos: detectan la presencia o concentración de sustancias tóxicas en una muestra de un

animal o de alimento. Por ejemplo, Pb en riñón, micotoxinas en alimento.

Inmunológicos: detectan la presencia o cantidad de anticuerpos producidos como respuesta frente a una infección, denominados comúnmente serológicos por utilizar suero como muestra. Por ejemplo, Rosa de Bengala para brucelosis; ELISA para el virus de la leucemia felina (FLV).

1.3.2 Control de calidad de análisis clínicos

Uno de los aspectos importantes a considerar en los análisis clínicos se refiere a la validación analítica de las técnicas utilizadas en el laboratorio de análisis clínico mediante un programa de control de calidad que asegure la confiabilidad de los resultados informados. Para dicho propósito se requiere de mantener un sistema de control que contemple todos los pasos involucrados en el proceso, desde la muestra hasta la entrega del informe, y junto a ello mantener en el tiempo los estándares de calidad definidos en la validación de una prueba. Es así que se entiende por Control de calidad a «las acciones destinadas para probar que un proceso, sistema, equipo o método trabaja de la manera esperada y logra los resultados propuestos».

Las técnicas analíticas permiten determinar los valores de un analito en una muestra mediante procesos y equipos adecuados y que hayan sido previamente validados. La norma ISO 15.189 en su punto 5.5 «Procedimientos analíticos» especifica que los métodos empleados por el laboratorio deben estar validados y que toda la información referida a su *performance*

(exactitud, precisión, linealidad y sensibilidad) debe estar registrada.

Uno de los problemas más importantes a enfrentar por un laboratorio de análisis clínico hace referencia a que los resultados informados deben ser concordantes con la realidad clínica y que sus técnicas deben ser tan precisas y exactas como lo recomendado. Al respecto, se debe tener en consideración que la pérdida de una de estas características conduce a una baja sensibilidad del método y una falta de concordancia entre los resultados reportados por diferentes laboratorios.

1.3.3 Errores de laboratorio

Un programa de control de calidad debe contemplar todos los pasos involucrados en el proceso de obtención de un resultado para un análisis clínico, vale decir preanalíticos (muestra y solicitud), analíticos (equipos, reactivos y proceso) y posanalíticos (informes).

Errores preanalíticos

Corresponden a los errores que se presentan en la muestra o en la solicitud de examen. Para evitarlos resulta conveniente un control en la calidad de la muestra. Un resultado será aceptable solo en la medida que la muestra sea representativa.

Sus errores devienen de problemas relacionados con la obtención y manejo, por lo que habrá de tener en cuenta los siguientes aspectos:

✓ Paciente adecuadamente preparado: reposo, ayuno, mínimamente estresado.

✓ Técnica de obtención bien ejecutada: canulación adecuada sin producir hemólisis o contaminación.

✓ Material adecuado: envase para la muestra acorde con el análisis (tubo sin aditivo o con EDTA o heparina, etc., acorde al análisis solicitado).

✓ Volumen de muestra acorde al requerimiento de la técnica analítica.

✓ Identificación del envase.

✓ Información correcta en la solicitud.

✓ Tiempo transcurrido desde la obtención y forma de preservación (t°).

Errores analíticos o metrológicos

El error metrológico corresponde a la suma de los errores e imprecisiones que se producen durante el proceso del análisis clínico de una muestra, donde su magnitud está dada por la suma de errores producidos durante todo el proceso de medición. Representan el error producido en la determinación del analito en el laboratorio. Por ello se debe tener en consideración que el método empleado debe estar validado para la especie de la cual procede la muestra. Por ejemplo, un contador hematológico desarrollado para humanos debe validarse para ser empleado con muestras de otras especies, como caninos, felinos o equinos y de ser pertinente ser calibrados acorde a las necesidades, por ejemplo para leucocitos de bovinos u ovinos, o bien no se puede emplear para el recuento de eritrocitos nucleados de aves o peces.

Para mantener en un mínimo aceptable el error metrológico se debe tener en consideración:

✓ Calidad y mantención de los equipos como pipetas (reguladas y calibradas), vidrios, plásticos (limpieza).

✓ Mantención y calibración de los instrumentos.

✓ Reactivos de calidad y adecuadamente preservados (tº, luz) y dentro de su fecha de uso.

✓ Preparación técnica del personal.

✓ Empleo permanente de un sistema de control de calidad analítica (precisión, exactitud).

Errores posanalíticos

Corresponden a los errores producidos en el proceso de transcripción durante la elaboración del informe con los resultados. Se debe tener especial cuidado con:

✓ Diferencias en los números o en la posición de decimales.

✓ Error en las unidades en que se expresan los resultados.

✓ Error en la especie informada. Por ejemplo, entregar un resultado de un gato con intervalo de referencia (IR) de caninos.

1.3.4 Validación de técnicas analíticas

Están referidas a las acciones destinadas a establecer que un determinado proceso, sistema, equipamiento o método funciona de la manera esperada y logra los resultados propuestos. Su objetivo final es estimar la magnitud del error metrológico y con ello establecer

como afectará la interpretación de un resultado y consecuentemente la decisión médica sobre un paciente.

La validación de un método analítico requiere tres pasos secuenciales:

1. Definición previa de las especificaciones o requerimientos de calidad

2. Diseño de un ensayo para obtener los datos necesarios

3. Análisis estadístico de los datos obtenidos

La variabilidad durante el proceso de medida origina errores aleatorios y sistemáticos en la medición, los que causan las diferencias entre el valor verdadero y el obtenido con un método. Es así que para el control de calidad de los análisis se emplean diferentes parámetros siendo los más utilizados los de precisión y exactitud.

Precisión: corresponde a la concordancia de resultados al repetir con el mismo método un análisis en la misma muestra, vale decir corresponde a la «repetitividad». La falta de precisión de un método es causada por errores aleatorios. Se evalúa realizando determinaciones consecutivas en la misma muestra y con sus resultados se determina el coeficiente de variación (CV), el cual en general debe ser < a 5 %. (Figura 1.7).

$$CV = (DE / \bar{x}) \times 100$$

Donde DE= desvío estándar y \bar{x} = media.

Exactitud: corresponde al grado de concordancia

entre el valor obtenido de una muestra con el valor verdadero. Se determina empleando como muestra un suero patrón de concentración conocida y la inexactitud se expresa en porcentaje, correspondiendo al error sistemático (Figura 1.7).

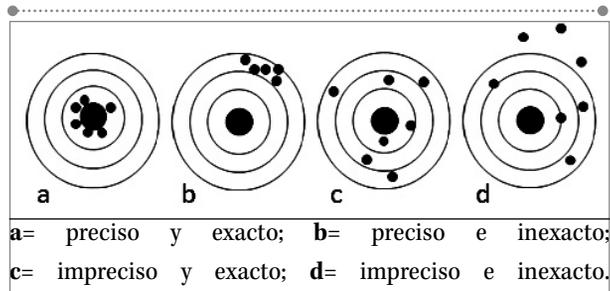


Figura 1.7. Precisión y exactitud en los resultados de una muestra.

Los sueros controles corresponden a sueros comerciales o preparados del laboratorio con valores conocidos (\bar{x} y DE) para los analitos que se determinan. Se emplean en cada oportunidad que se calibra el equipo y con sus resultados se controla la exactitud. Para ello se utiliza el gráfico de Levi-Jenning (Figura 1.8), considerando como aceptable una imprecisión dentro de $\bar{x} \pm 2$ DE del valor reportado. Por ejemplo, al usar un suero control que reporta un valor de urea = $9,0 \pm 0,54$ mmol/L se espera que el resultado esté entre 7,92 y 10,08 mmol/L, indicando que el proceso analítico es aceptable. Por el contrario, un resultado bajo o sobre dichos valores (el día 11 en la Figura 1.8) indica la necesidad de repetir el

análisis previa re-calibración del equipo que puede incluir cambios en los reactivos o condiciones analíticas.

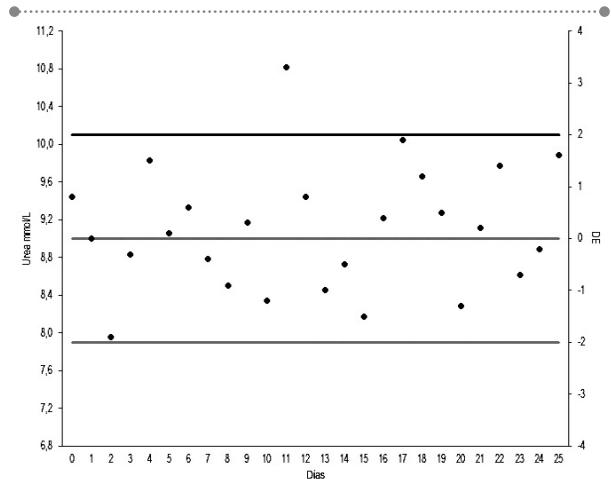


Figura 1.8. Gráfico de Levi Jenning para un suero control de urea = $9,0 \pm 0,54$ mmol/L.

El uso sistemático de un suero control al inicio de la rutina diaria del laboratorio, además de controlar la exactitud de la técnica, permite al cabo de un tiempo calcular la precisión entre ensayos.

Confiabilidad: es la cualidad que posee un método para mantener su precisión y exactitud en el transcurso de un tiempo determinado.

Límite de detección: es la cantidad mínima que un método puede distinguir de 0.

$$LD = 0 + 3 \text{ DE del blanco del método}$$