

DOCUMENTO GENERAL

TOMA DE MUESTRA DE SANGRE PARA EL ANÁLISIS DE DETECCIÓN DE LIBERACIÓN DE INF-γ

Principio de la técnica:

Antes de obtener las muestras de sangre para el diagnóstico de Tuberculosis bovina mediante la técnica Interferón gama, es importante saber que básicamente esta técnica consiste en hacer la prueba de tuberculina en condiciones de laboratorio, donde la muestra de sangre entera con anticoagulante reemplaza al animal en pie.

Considerando lo anterior, resulta fundamental obtener una muestra de excelente calidad, ya que en el laboratorio las células blancas viables de la muestra de sangre serán estimuladas con los antígenos PPD aviar y PPD bovino, para que produzcan Interferón Gamma, el que será detectado en una segunda etapa de la técnica, a través de un análisis ELISA.

Dentro de la Técnica Interferón gama, está una prueba de viabilidad celular, que nos indica si la muestra llegó en buenas condiciones o no al laboratorio, y, por lo tanto, si los resultados obtenidos son o no válidos.

Para obtener una adecuada muestra de sangre, se debe contar con los siguientes insumos y materiales:

- Tubos para toma de muestra de sangre con tapa verde, con Heparina de Litio como anticoagulante, capacidad 10ml.
- Sistema de Capachos Vacutainer o Jeringa de capacidad 10 ml.
- Caja Isotérmica (plumavit o cooler para alimentos)
- Guatero de Semillas o sistema similar (botella plástica con agua caliente)

Para tomar las muestras se deben seguir los siguientes pasos:

PASO 1.- OBTENER MUESTRA DE SANGRE CON SISTEMA VACUTAINER O CON JERINGA:

Las muestras de sangre deben ser tomadas con la mayor asepsia posible en la vena coccígea (**Foto 1**) o por punción yugular. Debe ser colectada con agujas y tubos estériles, siendo ideal su obtención con sistema vacutainer (**Foto 2**).

DOCUMENTO GENERAL

TOMA DE MUESTRA DE SANGRE PARA EL ANÁLISIS DE DETECCIÓN DE LIBERACIÓN DE INF- γ

FOTO 1:

Punción vena coccígea condiciones de campo.



FOTO 2:

Sistema vacutainer, aguja y capacho.



Si utiliza jeringa para la obtención de la muestra de sangre, esta debe ser inmediatamente transferida al tubo con anticoagulante (Heparina de Litio) sacando la aguja, e inclinando el tubo para permitir que la sangre se deslice suavemente a través de la pared del tubo (**Foto3**). El proceso de coagulación de la sangre empieza inmediatamente desde que se obtiene la muestra, por lo tanto, si dejas pasar tiempo para traspasar la muestra al tubo con Heparina de Litio, la sangre se coagulará. Para que la heparina se mezcle con la muestra de sangre, es necesario invertir el tubo con sangre al menos 5 veces (homogenización), suavemente y sin agitar (**Foto 4**).

Importante: Este paso es relevante dado que es clave para evitar la lisis celular que inhabilita la muestra.

FOTO 3:

Traspaso de sangre entera al tubo con heparina de litio.

DOCUMENTO GENERAL

TOMA DE MUESTRA DE SANGRE PARA EL ANÁLISIS DE DETECCIÓN DE LIBERACIÓN DE INF- γ



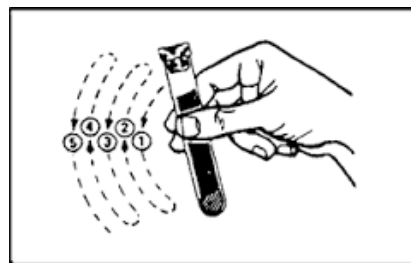
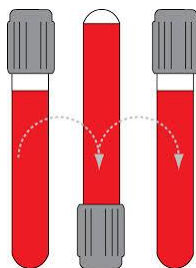
PASO 2.- MEZCLAR MUESTRA DE SANGRE CON HEPARINA

El tubo contiene la heparina de Litio en sus paredes, por eso no es posible visualizarla dentro del tubo. Para que esta heparina se mezcle con la muestra de sangre, es necesario realizar la mezcla invirtiendo el tubo con sangre, al menos 5 veces (Foto 4).

Recuerda que debe ser mezclado suavemente, sin agitar.

FOTO 4:

Giro para homogenizar sangre dentro del tubo.



DOCUMENTO GENERAL

TOMA DE MUESTRA DE SANGRE PARA EL ANÁLISIS DE DETECCIÓN DE LIBERACIÓN DE INF-γ

PASO 3.- MANTENER LA TEMPERATURA DE LA MUESTRA:

Una vez que obtenida la muestra, para asegurarnos que las células se mantengan viables, es muy importante mantener una temperatura adecuada, entre 18°C a 25°C. Para esto, las muestras NO DEBEN SER REFRIGERADAS.

Desde que es obtenida la primera muestra de sangre mezclada con la heparina, se debe mantener su temperatura, ya sea almacenándolas en primera instancia en el bolsillo del overol o directamente en una caja isotérmica.

Ahora, si la temperatura ambiental es muy fría (bajo los 18°C), para seguir manteniendo la temperatura, se deben colocar los tubos en una caja isotérmica o similar que tenga en su interior un guatero de semillas o una botella de agua caliente.

En estas condiciones debes enviar tu muestra al laboratorio, la que debe ser procesada antes de las 24 horas desde que se obtuvo desde el animal en pie.

CRITERIOS DE APTITUD DE LAS MUESTRAS	
MUESTRAS APTAS	MUESTRAS NO APTAS
Sangre no coagulada	Sangre coagulada
Cantidad de sangre mayor a 2 ml	Muestra de suero
Muestra INGRESADA al laboratorio antes de 30 horas desde la toma de muestra	Muestra de plasma
	Cantidad de sangre menor a 2 ml
	Muestra INGRESADA al laboratorio después de 30 horas después de la toma de muestra
	Sangre congelada o refrigerada