

UNIVERSIDAD NACIONAL AUNTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

**COMPARACIÓN DE ALTERACIONES IN VITRO DE ANALITOS
BIOQUIMICOS SÉRICOS CON EL USO DE TUBOS SIN
ANTICOAGULANTE Y TUBOS CON GEL SEPARADOR EN
PERROS**

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA
JOEL AUGUSTO GARCÍA RIVERA

Asesores:

MVZ EPCV M en C Luis Enrique García Ortuño
MVZ EPCV José Antonio Ruiz Remolina

México, D.F.

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1. Generalidades de bioquímica sanguínea	
1.2. Obtención, conservación y manejo de muestras para estudio bioquímico.	
1.3. Artefactos que influyen en los resultados bioquímicos	
1.4. Tubos de obtención de muestra con gel separador	
2. JUSTIFICACIÓN.....	8
3. HIPÓTESIS.....	9
4. OBJETIVOS.....	9
4.1. Objetivo general	
4.2. Objetivos específicos	

5.MATERIAL Y MÉTODOS.....	10
5.1. Animales	
5.3. Toma de muestras	
5.4. Diseño experimental	
5.5. Estadística	
6. RESULTADOS.....	13
7. DISCUSIÓN.....	14
8. CONCLUSIÓN.....	18
9. REFERENCIAS.....	19
10. TABLAS.....	21
11. GRÁFICAS.....	28

RESUMEN

GARCÍA RIVERA JOEL AUGUSTO. Comparación de alteraciones in vitro de analitos bioquímicos séricos con el uso de tubos sin anticoagulante y tubos con gel separador en perros (bajo la dirección de: MVZ EPCV M en C Luis Enrique García Ortuño y MVZ EPCV José Antonio Ruiz Remolina).

Debido a que actualmente el estudio bioquímico sanguíneo es una herramienta básica para el diagnóstico clínico, la sangre para dicho análisis debe mantener las mismas características físico-químicas, por lo que la obtención de la muestra se debe de llevar a cabo de la manera más adecuada para evitar la formación de alteraciones (hemólisis, lipemia), que puedan modificar dichas características, dando resultados o interpretaciones poco confiables.

Existen nuevas alternativas de tubos al vacío para conservación de muestras que puedan ser más eficientes y reducir las alteraciones que pueden ser

causadas por el tiempo y la temperatura . De manera particular los tubos con gel separador BD[®] (Becton and Dickinson), representan una buena solución para mejorar el manejo, conservación y envío de las muestras ya que evitan el contacto prolongado del suero con las células sanguíneas separando estos dos componentes. En este trabajo se compararon las diferencias en las concentraciones de analitos bioquímicos séricos entre 4 grupos de perros sanos con el uso de tubos sin anticoagulante (tapón rojo) y tubo con gel separador (tapón dorado) a temperatura ambiente y con diferentes tiempos de centrifugación después de la toma de muestra. Se utilizó la prueba estadística “t” de student a través del programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) para comparar las medias entre los grupos y sus respectivos controles resultando en diferencias estadísticamente significativas entre ambos tubos para los analitos lactato y glucosa concluyendo así que los tubos de tapón dorado son más eficientes con el paso del tiempo para la conservación de la muestra.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Generalidades de bioquímica sanguínea

El estudio bioquímico sanguíneo es una herramienta diagnóstica fundamental y ampliamente utilizada en la práctica clínica veterinaria. A través de este estudio se pueden detectar una gran cantidad de alteraciones fisiológicas en diferentes órganos y sistemas, que no siempre son evidentes a través de un examen clínico.⁽¹⁾ Un perfil bioquímico completo para el Departamento de Patología de la FMVZ-UNAM está compuesto por la determinación de la glucosa, urea, creatinina, colesterol, triglicéridos, bilirrubina (total, directa e indirecta), amilasa, enzimas hepáticas (ALT, AST, FA, GGT), creatina cinasa (CK), proteínas (totales, albúmina y globulinas), bicarbonato, electrolitos (sodio, cloro, potasio), fosforo, calcio, diferencia de iones fuertes (DIF), anion gap u osmolalidad; cada uno con utilidades específicas para la evaluación de diferentes órganos o sistemas. Como en el caso de las enzimas hepáticas séricas (ALT y AST) usadas para determinar una lesión hepatocelular o las que reflejan un incremento de la producción enzimática estimulada por bilis retenida o por una inducción farmacológica (FA y GGT), así como en la evaluación del riñón que por medio de la determinación de urea y creatinina permiten cuantificar la función renal con base a la integridad de las nefronas; por esta razón es importante tener una historia clínica detallada y realizar un examen físico completo que aproxime al problema y de esa forma saber cuáles serían los analitos más adecuados a determinar y/o perfil bioquímico a elegir (ver tabla 1).⁽²⁾

1.2. Obtención, conservación y manejo de muestras para estudio bioquímico.

Para realizar un correcto análisis bioquímico sanguíneo, la sangre tiene que seguir conservando las mismas características físico-químicas tanto in vivo como in vitro, con el fin de evitar alteraciones o artefactos en la muestra extraída y que pudieran dar lugar a resultados e interpretaciones erróneas o poco confiables. Debido a esto, la obtención y manejo del suero tiene que llevarse a cabo de forma adecuada.⁽¹⁾

La forma recomendada para obtención de suero es la siguiente: una vez obtenida la muestra sanguínea, se vierte en tubos al vacío con tapón rojo (sin anticoagulante), posteriormente es necesario esperar de 30 a 45 minutos para la retracción del coágulo e inmediatamente después centrifugar a 1000 g durante 10 minutos y con el uso de una pipeta Pasteur separar el suero del componente celular (eritrocitos, leucocitos y plaquetas). Este último paso es fundamental que se realice lo antes posible ya que un tiempo prolongado del suero con el componente celular puede inducir cambios significativos en diversos analitos bioquímicos debido al efecto del metabolismo continuo de estas células. Si el tiempo de coagulación no es el adecuado, la formación latente de fibrina puede causar un problema en las determinaciones que se efectúan en equipos automáticos.

Si el suero no se separa de las células del coágulo, pueden aparecer artefactos con el tiempo, uno de los más habituales es que la concentración de glucosa disminuye debido al consumo de la glucosa por parte de los eritrocitos y los leucocitos para obtener energía. La concentración de glucosa disminuye aproximadamente un 10% por hora a temperatura ambiente, si se deja el suero en contacto con las células sanguíneas. El fósforo sérico puede

aumentar con el tiempo cuando las células metabolizan el ATP a ADP liberando el fósforo al suero. También pueden aparecer otros cambios, pero son más variables. El tiempo máximo recomendado para la separación del suero son 2 horas reportado por Laessig quien observó cambios en glucosa y potasio después de un tiempo de almacenamiento de 2 horas en células a temperatura ambiente.⁽³⁾

Una vez separado el suero debe analizarse inmediatamente, si esto no es posible puede refrigerarse por un lapso de 24 a 48 horas conservándose la mayoría de los analitos estables; el suero también puede congelarse y los analitos se conservarán por mucho mayor tiempo. (Tabla 1, 2 y 3)^(4,5)

Desafortunadamente, en la práctica diaria un gran porcentaje de muestras para estudio bioquímico se remiten al laboratorio de forma inadecuada, ya que no se realiza la separación del suero dentro de los tiempos requeridos; lo anterior representa un problema frecuente al que se enfrentan los Patólogos Clínicos y repercute en la dificultad para interpretar las alteraciones bioquímicas.⁽¹⁾

1.3. Artefactos que influyen en los resultados bioquímicos

La presencia de hemólisis, bilirrubina o concentraciones altas de triglicéridos (lipemia) es uno de los problemas más complejos y persistentes en las determinaciones químicas, por la producción de interferencias espectrales o químicas con los métodos de laboratorio, modificando cuantitativamente el resultado final.

Hemólisis:

La hemólisis es el resultado de la lisis anormal de los eritrocitos causado por: una larga permanencia de la sangre total en el recipiente, un choque térmico (caliente como frío), en recolección y la manipulación de la muestra (vacío violento al extraer la muestra con agujas de calibres muy delgados o por el uso de material sucio o húmedo con agua o alcohol) y la manipulación brusca de la muestra antes de que el coágulo se haya formado (en el caso de obtener el suero). Otra causa importante de hemólisis es dejar en contacto el suero con las células sanguíneas ya que los eritrocitos se lisan. Una vez presente el artefacto puede presentarse falsos incrementos en los valores séricos de bilirrubina, magnesio, potasio (especialmente en equinos y rumiantes), fósforo, creatinina y en la actividad enzimática (ALT, AST, CK, FA y amilasa) ^(2,7)

Dado que la mayoría de los ensayos se basan en la absorbancia de la luz transmitida a través de la muestra, la hemólisis puede interferir de forma importante con muchas pruebas, dependiendo del tipo de analizador y de la metodología empleada. La hemólisis casi siempre se produce en muestras no separadas a tiempo, pero ocurre más rápidamente cuando la temperatura ambiente es alta. En general, es mejor separar el suero y transferirlo a otro tubo de tapón rojo si la muestra se va a enviar al laboratorio, esto ayuda a evitar la hemólisis asociada al transporte de la muestra y se puede valorar también lipemia y hemólisis previa al envío de la muestra. ^(7,8)

Lipemia:

Es provocada por una concentración alta de triglicéridos en el suero, esta provocará resultados aparentemente altos para todas las sustancias cuyas determinaciones se basan en la absorbancia a las mismas longitudes de onda en que las partículas de lípido también absorben luz. Los efectos más importantes se relacionan a la medición de proteínas totales, albúmina, creatinina, ALT, AST, FA, bilirrubina total, glucosa, calcio y fósforo que pueden encontrarse probablemente altas. Mientras que sodio, cloro y potasio pueden disminuir. La lipemia promueve la fragilidad de células rojas por lo que las muestras lipémicas hemolisan rápidamente. ⁽⁸⁾

Ictericia:

La ictericia puede interferir en las determinaciones de analitos como: albúmina, FA, fósforo y cloro aumentándolos, mientras que en la determinación de creatinina, triglicéridos y colesterol, que utilizan como reactivo el cloruro férrico, los disminuyen. En las determinaciones de glucosa basadas en el método de la o-toluidina y en las proteínas totales por biuret, o en las reacciones que usen filtro a 405 o a 520 también se observan disminuciones. ⁽⁸⁾

1.4. Tubos de obtención de muestra con gel separador

Las nuevas generaciones de tubos para la extracción de muestras sanguíneas disponibles en el mercado están desarrolladas con base a la evolutiva demanda de las necesidades clínicas. De manera particular, los tubos con gel separador BD[®] ampliamente utilizados en medicina

humana, representan una buena solución para mejorar el manejo, conservación y envío de las muestras ya que estos evitan el contacto prolongado del suero con las células sanguíneas separando estos dos componentes después de ser centrifugada. ^(9,10)

Tubos de plástico de tapón rojo: Tubo sin anticoagulante, en plástico, con el interior recubierto de silicona y activador de coágulo, con un volumen aproximado de aspiración de 4.0 mL, de 13 x 75 mm, con tapa de seguridad HEMOGARD y tapón siliconado hemorrepeleente. ⁽¹¹⁾

Tubos de plástico con gel de tapón dorado: Tubo sin anticoagulante, con gel separador, en plástico, con el interior recubierto de silicona y activador de coágulo, con un volumen aproximado de aspiración de 3.5 ml, de 13 x 75 mm, con tapa de seguridad HEMOGARD y tapón siliconado hemorrepeleente. ⁽¹¹⁾

2. JUSTIFICACIÓN

Es necesaria la evaluación de nuevas alternativas de tubos para conservación de muestras que puedan ser más eficientes y reducir las alteraciones que pueden ser causadas por el tiempo y la temperatura en las muestras sanguíneas para estudio bioquímico

3. HIPÓTESIS

Las concentraciones de algunos de los analitos bioquímicos de las muestras recolectadas en tubos con gel separador serán diferentes a través del tiempo, que las muestras tomadas en tubos sin gel.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General:

Comparar las diferencias en las concentraciones de analitos bioquímicos séricos con el uso de tubos sin anticoagulante (tapón rojo) y tubo con gel separador (tapón dorado) a temperatura ambiente y con diferentes tiempos de centrifugación después de la toma de muestra.

4.2. Objetivos Específicos:

1. Conocer y comparar el efecto que tiene el tiempo de contacto del componente celular con el suero sobre los analitos bioquímicos a temperatura ambiente.
2. Describir y explicar las diferencias que puedan presentarse en analitos bioquímicos específicos.
3. Determinar cuál de los dos tubos puede conservar las características fisicoquímicas séricas en mejores condiciones.
4. Describir las ventajas y desventajas que representa el uso de los dos diferentes tubos.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Animales

Se utilizaron 20 perros (machos y hembras) que se obtuvieron de un refugio privado en la Ciudad de México. A cada uno de los individuos se realizó un examen físico general y hemograma.

5.1.1 Criterios de Inclusión

Los perros utilizados fueron individuos sanos (constantes fisiológicas normales y hemograma sin alteraciones) con edades entre los 3 y 8 años y con un peso entre 10 y 20 kg.

5.1.2 Criterios de Exclusión

Se rechazaron todos aquellos individuos que presentaron alteraciones como (anemia, eritrocitosis y/o leucocitosis). Pevio a la toma de muestras los perros se mantuvieron en un ayuno de 12 horas para evitar efectos posprandiales en este caso la lipemia que pudieran alterar algunos analitos o generar interferencias analíticas ⁽⁵⁾

5.2 Procesamiento de las Muestras

La evaluación de las muestras se llevó a cabo en el laboratorio de bioquímica de la sección de Patología Clínica del Departamento de Patología de la FMVZ-UNAM. Se utilizó un espectrofotómetro modelo Selectra Junior (Holanda). Los analitos incluidos en el presente trabajo son los que forman parte del perfil básico del Departamento, más el ácido láctico. Aunque se sabe que algunos analitos del trabajo son estables a los cambios de temperatura

se incluyen para corroborar que no haya alteraciones asociadas a otros factores intrínsecos al tubo.

5.3 Toma de muestras:

La sangre para las muestras sanguíneas se obtuvo de la vena yugular ya que es la vena de más fácil acceso y de la cual se puede obtener mayor cantidad de sangre.

5.4 Diseño experimental:

Experimento 1

En 5 perros se tomaron 6 mL de sangre. Se colocaron 3 mL en los dos diferentes tubos (tapón rojo y tapón dorado), se centrifugaron a 3000 rpm (1000g) después de 30 minutos, posteriormente se separó el suero y realizaron las determinaciones bioquímicas.

Experimento 2

En 5 perros se tomaron 9 mL de sangre. Se colocaron 3 mL en cada uno de los dos diferentes tubos (tapón rojo y tapón dorado) y 3 mL en el control, se centrifugaron a 3000 rpm (1000g) después de 30 minutos y se mantuvieron en baño maría a 30°C durante 3 horas, posteriormente se separó el suero y se realizaron las determinaciones bioquímicas.

Experimento 3

En 5 perros se tomaron 9 mL de sangre, se colocaron 3 mL en cada uno de los dos diferentes tubos (tapón rojo y tapón dorado) y 3 mL en el control, se centrifugaron a 3000 rpm (1000g) después de 30 minutos y se mantuvieron en baño maría a 30°C durante 6 horas, posteriormente se separó el suero y se realizaron las determinaciones bioquímicas.

Experimento 4

En 5 perros se tomaron 9 mL de sangre, se colocaron 3 mL en cada uno de los dos diferentes tubos (tapón rojo y tapón dorado) y 3 mL en el control, se centrifugaron a 3000 rpm (1000g) después de 30 minutos y se mantuvieron en baño maría a 30°C durante 12 horas, posteriormente se separó el suero y se realizaron las determinaciones bioquímicas.

Para los experimentos del 2 al 4 se realizó una muestra control la cual tuvo los mismos tiempos de toma y centrifugación pero inmediatamente después de centrifugada la muestra se separó el suero y se realizaron las determinaciones bioquímicas correspondientes. El control se llevó a cabo en tubos con tapón rojo.

El baño maría se ocupó para mantener las muestras de los tubos con tapón rojo y dorado, del experimento 2 al 4, a 30° C para que todas las muestras tuvieran las mismas condiciones y se pudiera realizar un comparativo más exacto. Se escogió una temperatura de 30° C por que de acuerdo a la literatura es a la temperatura a la que se presentan cambios *in vitro* significativos en los analitos.

5.5 Estadística

El análisis estadístico de las muestras se llevó a cabo con la prueba t-Student para variables independientes, la cual es ampliamente utilizada para estimar medias poblacionales y para la determinación de las diferencias entre dos medias muestrales. Para el cálculo de esta distribución t se utilizó el programa estadístico SPSS corroborando en principio que cada analito tiene distribución normal. Se formó una base de datos con los resultados obtenidos de las bioquímicas, después se realizó comparación de muestras independientes y se compara analito por analito. Se consideró como diferencias significativas una $P < 0.05$.

6. RESULTADOS

En el experimento 1 (tabla 5) se observaron diferencias estadísticamente significativas en el analito de bicarbonato, mostrándose más disminuido en el tubo con tapón rojo mientras que el resto de los analitos no mostró diferencias.

En el experimento 2 (tabla 6) se observaron diferencias estadísticamente significativas en el analito de lactato cuando se comparan el control con el tubo de tapón rojo y el control con el de tapón dorado, mostrándose las concentraciones más bajas en el control para ambos casos.

En el experimento 3 (tabla 7) se observan las mismas diferencias que en el experimento anterior con lo que respecta al lactato, sin embargo también se observaron diferencias

estadísticamente significativas en el analito de glucosa cuando se comparan el control con el tubo de tapón rojo, el cual mostró concentraciones más bajas de este analito.

El experimento 4 (tabla 8) se vuelven a observar diferencias estadísticamente significativas en el analito glucosa al compararse el tubo de tapón rojo con el control y ahora también con el tubo de tapón dorado, en cuanto al lactato se observó la misma diferencia al comparar el tubo control con el tubo de tapón rojo pero desaparece la diferencia al comparar el control con el tubo de tapón dorado que aunque el primero tiene concentración más baja se cierra la brecha entre ambas medias.

Se graficaron los resultados de los analitos en los cuales se encontraron diferencias significativas. (Gráficas 1 ,2 y 3)

Para el resto de analitos evaluados en el estudio no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los experimentos.

7. DISCUSIÓN

Los hallazgos más importantes en este estudio corresponden a los encontrados a los analitos de glucosa y lactato. Con respecto a la glucosa, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el control y el tubo con tapón rojo, sólo hasta después de 6 horas de centrifugado de la muestra. En la literatura se ha mencionado que cuando las muestras se almacenan a temperatura ambiente (22°C – 25°C) se observa disminución de glucosa de 3.6mmo/L dentro de las primeras 24 horas, debido al metabolismo enzimático intracelular.⁽¹²⁾

En este tiempo si bien no hubo diferencia estadísticas entre el tubo dorado y el rojo la media si es mayor para el tubo dorado razón por la cual no presentó diferencias cuando se compara con el control. Para el experimento 4 la diferencia es clara, mostrando una importante eficacia del uso del tubo con tapón dorado, ya que a pesar de haber transcurrido 12 horas para el análisis no se encontraron diferencias entre el tubo dorado y el control, y el tubo rojo mostró ser ineficaz en este caso ya que la concentración de glucosa fue menor significativamente que el control y que el tubo dorado. Por lo tanto conforme más transcurre el tiempo, el tubo sin gel separador va perdiendo eficacia si no se separa del componente sanguíneo.

Con respecto al lactato, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el control y el tubo con tapón rojo, a partir de 3 horas del centrifugado de la muestra y hasta las 12 horas, posteriormente en el experimento 3 se observa una diferencia entre las medias no solo del tubo rojo con el control sino del rojo con el dorado, de la misma manera en la que ocurrió con la glucosa no se encuentran diferencias significativas entre las medias de los tubos control y tubo dorado. El ácido láctico es el producto final del metabolismo anaeróbico de la glucosa y se produce diariamente, pero también durante los procesos patológicos. Un pH fisiológico, el ácido láctico se disocia inmediatamente a lactato e iones de hidrógeno, con lactato aprobados por el hígado y el riñón.

La acumulación de lactato clínicamente significativa se debe a hipoperfusión e hipoxia tisular, debido al cambio de la glucólisis anaeróbica. Inadecuada perfusión, hipoxemia grave, el aumento de la demanda de oxígeno, disminución de la concentración de hemoglobina, son factores que influyen en este estado hipóxico; de esta manera se puede

explicar el aumento del lactato de los diferentes experimentos ya que al haber un continuo consumo de glucosa en los tubos rojos al estar en contacto las células con el suero, el propio metabolismo de la glucosa ocasiona un aumento del lactato; esto deja en claro que a partir de las tres horas el tubo con tapón rojo deja de ser eficiente mientras que el tubo con tapón dorado mejora su eficacia conforme pasa el tiempo ya que al no permitir el contacto del suero con las células no se presenta consumo de glucosa in vitro y por consecuencia no genera un aumento falso del lactato.

En la literatura se ha mencionado que el lactato puede tener una ganancia de 8.9 mmol/L en 24 horas cuando la muestra es almacenada a temperatura ambiente.^(5,12) Otros factores que pueden alterar los resultados son técnicas de obtención o manipulación de los animales ya que factores como el estrés, el temblor, resistencia a la sujeción, la excitación, la estasis venosa y ejercicio aumentan la concentración de lactato (2,5 - 5,0 mmol / L). De igual forma se ha descrito que la falta de separar el suero de los eritrocitos es una condicionante importante que aumenta falsamente los valores del resultado.^(6,13)

Por otro lado, se observa que los tubos de tapón rojo como los tubos SST de tapón dorado no son los más convenientes para la medición de glucosa y/o lactato. Existen tubos mucho más específicos para esta medición reportados en la literatura como son los que contienen fluoruro de sodio (NaF) y oxalato de potasio (Ox) (tapón gris). El Oxalato es un anticoagulante que funciona quelando el calcio. El NaF es un producto químico que inhibe muchas de las enzimas involucradas en la glucólisis, lo que paraliza el metabolismo de la glucosa por las células de la muestra de sangre. Las muestras sanguíneas obtenidas en tubos de NaF se emplean para obtener una medición exacta de la glucosa sanguínea sin tener que separar el suero o el plasma de las células. Además de inhibir el empleo de glucosa, el NaF

inhibe la producción de lactato. Por tanto, los tubos de NaF/Ox también se emplean cuando se busca una determinación de lactato sérico. La sangre obtenida en un tubo de fluoruro mantiene una concentración de glucosa estable durante por lo menos 24 horas a temperatura ambiente, y 48 horas refrigeradas. El lactato mostró ser estable a temperatura ambiente en muestras felinas durante por lo menos 8 horas. Los tubos de fluoruro son más útiles para realizar una curva de glucosa en un paciente diabético. Se pueden obtener varias muestras en un período de horas, y enviarlas entonces al laboratorio para las determinaciones de glucosa de una sola vez. ⁽⁷⁾

Es importante tomar en cuenta que aunque las concentraciones de glucosa permanecen estables en los tubos de NaF, son artificialmente menores que las concentraciones medidas en el suero de muchas especies. La obtención de sangre en tubos de fluoruro origina una reducción y lisis de los eritrocitos y por lo tanto el paso de líquido intraeritrocítico a plasma origina una disminución en el hematocrito y, consecuentemente, la dilución de algunos analitos séricos, como la glucosa. En un estudio en gatos, las concentraciones de glucosa medidas en plasma con NaF/Ox fueron un 12% inferior a las obtenidas en muestras séricas de animales normoglucémicos. La magnitud de esta diferencia fue mayor en los animales hiperglucémicos, con una media del 14% inferior en el grupo de gatos diabéticos. Esta diferencia debe tenerse en cuenta cuando se emplean tubos de NaF/Ox. ⁽⁷⁾

Si bien hubo diferencias en los analitos de glucosa y lactato, estas no fueron tan notables como las esperábamos cuando comparamos tapón rojo con tapón dorado, esto probablemente se puede asociar a que ambas muestras se centrifugaron después de 30 minutos, y aunque en el caso del tubo con tapón rojo no se retiró el suero del componente celular, probablemente la separación física producto de la centrifugación, ayudó en cierta forma a la conservación de la glucosa. Este resultado es interesante ya que probablemente

aunque no se utilice tubo con gel separador podría mejorar la conservación de algunos analitos si se centrifuga la muestra después de 30 minutos, aunque no se separe el suero, para corroborar esta aseveración es necesario realizar estudios posteriores.

Con respecto al resto de los analitos en trabajos previamente realizados se ha observado disminución de potasio (por transporte al interior de la célula) posterior a las 2 h después de la toma de la muestra, disminución de AST y ALT posterior a las 4 h a una temperatura de 30°C.^(5,13)

El fósforo tiene un aumento considerable proporcional al aumento de temperatura y la creatinina aumenta un 60 % en 24 horas.⁽¹⁴⁾ Por otro lado, se han encontrado incrementos en albúmina, urea y proteínas de un 2% a un 6% en 24 horas a temperatura ambiente, sin embargo, sin diferencias estadísticas significativas.^(5,14) A pesar de lo informado en la literatura en este estudio no se observaron diferencias significativas en ningún otro analito que puedan verse afectados por el tiempo de conservación de la muestra para ninguno de los dos tubos en comparación con el control.

8. CONCLUSIÓN

Al comparar los tubos de tapón dorado con los predecesores de tapa roja sin anticoagulante se concluye que mientras más transcurre el tiempo se hace evidente la eficacia de este tipo de tubos para la conservación de la muestra principalmente para los analitos de glucosa y lactato, lo cual repercute en la interpretación de los resultados y diagnóstico de ciertas enfermedades en donde estos analitos son parte fundamental.

Por otro lado el uso de los tubos de tapón dorado también permite una separación estable de las fases celular y sérica en forma permanente lo cual facilita las condiciones de su transporte debido a que disminuye la presencia de hemólisis ocasionada por movimientos bruscos en el transporte de la muestra, ya que el tubo con gel evita que el suero este en contacto con las células y a pesar del movimiento causado por el transporte y la lisis de los eritrocitos el suero no se ve afectado al estar separado, de tal manera que las mediciones no son afectadas por este artefacto.

9. REFERENCIAS:

1. Willard M, Tvedten H, Turnwald G. Small Clinical Diagnosis by Laboratory Methods. 3rd ed, Philadelphia: Saunders, 1999.
2. Bouda J, Nuñez L. Patología clínica veterinaria. 1^{ra} edición. México: Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 2008.
3. Laessig RH, Carey RN, Westgard JO, Hassemer DJ, Habihg R. Field Evaluation of the Becton Dickinson SST. Health Lab Sci 1976; 13:209-217.
4. Nadja NR, Chiang BT. Storage of Whole Blood: Effect of Temperature on the Measured Concentration of Analytes in Serum. Clin Chem 1998; 34 Suppl 10:2111-2114.
5. Ono T, Kitaguchi K, Takehara M, Shiiba M, Hayami K. Serum-Constituents Analyses: Effect of Duration and Temperature of Storage of Clotted Blood. Clin Chem 1981; 27 Suppl 1:35-38.

6. Shelly L. Blackwell's five minute veterinary consult: Laboratory tests and diagnostic procedures canine and feline. USA: Wiley-Blackwell, 2009.
7. Meinkoth J. Obtención y manejo de muestras: Cómo conseguir resultados exactos en clínicas veterinarias: Medicina de Pequeños Animales. 2007:03 – 219.
8. Meyer D. El laboratorio en medicina veterinaria: Interpretación y diagnóstico. 2^{da} Edición. Argentina: Inter-Medica, 2000.
9. Suárez SC, Araneda FM, Tong SAM, Vial CM, Aldunate OJ. Correlación de determinaciones bioquímicas al usar dos tipos diferentes de tubos para muestras sanguíneas, Revista Hospital Clínico Universidad de Chile Servicio Laboratorio Clínico, HCUCh.
10. Bush VJ, Janu MR, Bathur F, Wells A, Dasgupta A. Comparison of BD Vacutainer SST Plus Tubes with BD SST II Plus Tubes for common analytes. Clin Chem Act. 2001; 306 Suppl 1-2:139-143.
11. Becton and Dickinson.com [homepage on the Internet] New Jersey, USA 2010. Available from: <http://www.bd.com/faqs/>
12. Boyanton BL, Blick KE. Stability Studies of Twenty Four Analytes in Human Plasma and Serum. Clin Chem 2002; 48 Suppl 12:2242-2247.
13. Hendrix C. Laboratory procedures for veterinary technicians. 5th edition. Canada: Mosby Elsevier, 2002.
14. Kerr MG. Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Biochemistry and Haematology, 2nd Edition, Iowa: Blackwell Science, 2000.

10. TABLAS:

Tabla 1. Diferentes tipos de estudios bioquímicos realizados en el laboratorio de Patología Clínica de la FMVZ UNAM

Perfil Bioquímico Sanguíneo	Analitos
Perfil Básico	Glucosa, urea, creatinina, ALT, FA, albúmina, fósforo, potasio, sodio, cloro, bicarbonato, anion gap, diferencia de iones fuertes, osmolalidad.
Perfil Prequirúrgico	Glucosa, urea, creatinina, ALT, albúmina, potasio, sodio, cloro, bicarbonato, anion gap, diferencia de iones fuertes, osmolalidad.
Perfil Hepático	Amoniaco, glucosa, urea, colesterol, bilirrubinas, ALT, AST, FA, GGT, CK, albúmina.
Perfil Renal	Glucosa, urea, creatinina, amilasa, albúmina, fósforo, potasio, sodio, cloro, bicarbonato, anion gap, DIF, osmolalidad.

Tabla 2. Tiempos de conservación de analitos bioquímicos cuando se mantiene el suero a temperatura ambiente. ⁽⁶⁾

Analito	Sangre a temperatura ambiente
ALT	4 días
AST	7 días
ALBÚMINA	6 días
FOSFATASA ALCALINA	4 días
AMILASA	4 días
BICARBONATO	Inestable
BILIRRUBINA TOTAL	Inestable
BILIRRUBINA CONJUGADA	
CALCIO TOTAL	2 días
CALCIO IONIZADO	15 minutos
COLESTEROL	7 días
CK	7 días
CREATININA	7 días
GLUCOSA	10 minutos
FÓSFORO	-
POTASIO	1 hora
SODIO	4 días
PROTEÍNAS TOTALES	1 día
TRIGLICÉRIDOS	7 días
UREA	1 día

Tabla 3. Tiempos de conservación de analitos bioquímicos cuando se mantiene el suero a temperaturas de refrigeración. ⁽⁶⁾

Analito	(2 -8°C)	(4-8°C)	(20-25°C)
ALT	1 semana	1 semana	3 días
AST	1 semana	1 semana	4 días
ALBÚMINA	1 mes	5 meses	2.5 meses
FOSFATASA ALCALINA	1 semana	1 semana	1 semana
AMILASA	Por lo menos 1 mes	1 mes	1 semana
BICARBONATO	-	Hasta 3 días	1 día
BILIRRUBINA TOTAL	Más de 1 semana	1 semana	1 día
B. CONJUGADA		7 meses	2 días
CALCIO TOTAL	Mas o menos 3 semanas	3 semanas	1 semana
CALCIO IONIZADO	-	2 horas	3 días
COLESTEROL	1 semana	1 semana	1 semana
CK	1 semana	1 mes	4 horas
CREATININA	Menos de 1 mes	1 mes	4 horas
GLOBULINAS	1 mes	-	-
GLUCOSA	-	Por lo menos 3 días	2 días
FÓSFORO	Mas o menos 1 semana	-	-
POTASIO	1 semana	6 semanas	6 semanas
SODIO	1 semana	2 semanas	2 semanas
PROTEÍNAS TOTALES	3 días	4 semanas	6 días
TRIGLICÉRIDOS	1 semana	1 semana	2 días
UREA	1 semana	1 semana	1 semana

Tabla 4. Tiempos de conservación de analitos bioquímicos cuando se mantiene el suero a temperaturas de congelación. ⁽⁶⁾

ANALITO	(-4° C)	(-18°C)	(-20°C)	(-70°C)
ALT	-	-	Más de 1 semana	-
AST	-	-	3 meses	-
ALBÚMINA	-	Más de 1 mes	4 meses	-
FOSFATASA				
ALCALINA	-	-	2 meses	-
AMILASA	-	-	1 año	-
BICARBONATO	-	-	2 semanas	-
BILIRRUBINA TOTAL	-	-		-
BILIRRUBINA CONJUGADA	-	-	Mas o menos 3 meses	-
CALCIO TOTAL	-	-	8 meses	-
CALCIO IONIZADO	Mas o menos 1 semana	-	Mas o menos 6 meses	-
COLESTEROL	-	-	3 meses	Años
CK	-	-	1 mes	-
CREATININA	-	Indefinido	1 mes	-
GLOBULINAS	-	Más de 1 mes	-	-
GLUCOSA	-	-	1 día	-
FÓSFORO	-	-	Mas o menos 6 meses	-
POTASIO	-	-	1 año	-
SODIO	-	-	1 año	-
PROTEÍNAS				
TOTALES	-	-	6 meses	-
TRIGLICÉRIDOS	-	-	3 meses	-

Tabla 5. Experimento 1 Comparación de las determinaciones bioquímicas séricas de tubos de tapón rojo y dorado (medias, desviaciones estándar y valores de P), centrifugados después de 30 minutos de la toma de la muestra.

ANALITOS	UNIDADES	TAPÓN ROJO	TAPÓN DORADO	P
		MEDIA ± D.E.	MEDIA ± D.E.	
Glucosa	mmol/L	6,21 ± 0,59	6,34 ± 0,49	0,706
Urea	mmol/L	4,89 ± 0,34	4,61 ± 0,47	0,323
Creatinina	μmol/L	110,20±10,85	109,40 ±14,77	0,925
Colesterol	mmol/L	4,21 ± 0,87	4,52 ± 0,89	0,616
ALT	U/L	47,80 ± 4,76	45,60 ± 6,91	0,574
Fosfatasa alcalina	U/L	72,20 ± 33,18	85,00 ± 23,44	0,501
Proteínas totales	g/L	63,80 ± 3,56	64,00 ± 1,73	0,913
Albumina	g/L	33,20 ± 3,03	34,20 ± 2,86	0,606
Globulinas	g/L	30,60 ± 1,82	29,80 ± 1,30	0,447
Calcio	mmol/L	2,21 ± 0,56	2,51 ± 0,07	0,272
Fósforo	mmol/L	1,18 ± 0,23	1,15 ± 0,14	0,834
Potasio	mmol/L	5,15 ± 0,18	5,13 ± 0,25	0,909
Sodio	mmol/L	143,25 ± 0,96	144,40 ± 1,52	0,231
Cloro	mmol/L	112,00 ± 0,82	112,40 ± 0,89	0,511
Bicarbonato	mmol/L	18,75 ± 0,50	20,60 ± 0,89	*0,008
Osmolalidad	mOsm/kg	286,50 ± 2,65	287,80 ± 3,83	0,584
Lactato	mmol/L	3,30 ± 1,20	3,18 ± 0,66	0,854

ALT: Alanin aminotransferasa, AST: Aspartato aminotransferasa, C = Control, R = Tubo con tapón rojo, D = Tubo con tapón dorado. El asterisco indica una diferencia estadísticamente significativa con una P<0.05

Tabla 6. Experimento 2 Comparación de las determinaciones bioquímicas séricas de tubos de tapón rojo, dorado y control (media, desviación estándar y valor de P), sometidos a una temperatura de 30 °C por 3 horas previo a su análisis.

ANALITOS	UNIDADES	CONTROL	TAPÓN ROJO	TAPÓN DORADO	P		
		MEDIA ± D.E	MEDIA ± D.E.	MEDIA ± D.E.	C – R	C – D	R –D
Glucosa	mmol/L	5,73 ± 0,58	4,59 ± 0,88	4,41 ± 1,35	0,410	0,079	0,809
Urea	mmol/L	4,09 ± 0,20	4,01 ± 0,61	4,25 ± 0,25	0,774	0,302	0,434
Creatinina	µmol/L	98,40 ± 9,07	94,00 ± 11,73	100,80 ± 12,46	0,526	0,737	0,400
Colesterol	mmol/L	3,95 ± 0,47	4,16 ± 0,45	4,11 ± 0,37	0,489	0,565	0,853
ALT	U/L	49,20 ± 16,48	50,80 ± 19,94	49,20 ± 16,99	0,893	1,000	0,895
Fosfatasa alcalina	U/L	66,40 ± 51,23	99,80 ± 31,76	98,40 ± 32,64	0,250	0,273	0,947
Proteínas totales	g/L	60,00 ± 3,81	62,60 ± 3,65	63,80 ± 2,68	0,302	0,106	0,570
Albúmina	g/L	30,80 ± 2,17	33,00 ± 2,83	33,20 ± 3,11	0,205	0,195	0,918
Globulinas	g/L	29,20 ± 4,97	29,60 ± 5,73	30,60 ± 5,41	0,909	0,681	0,784
Calcio	mmol/L	2,45 ± 0,10	2,45 ± 0,04	2,49 ± 0,10	0,934	0,511	0,350
Fosforo	mmol/L	1,37 ± 0,31	1,47 ± 0,10	1,42 ± 0,30	0,494	0,808	0,702
Potasio	mmol/L	4,78 ± 0,31	4,96 ± 0,28	5,10 ± 0,36	0,398	0,205	0,502
Sodio	mmol/L	147,50 ± 3,79	146,20 ± 1,30	147,40 ± 0,89	0,491	0,955	0,128
Cloro	mmol/L	116,00 ± 2,94	113,00 ± 1,58	113,40 ± 1,14	0,089	0,109	0,659
Bicarbonato	mmol/L	19,80 ± 2,28	19,20 ± 1,10	21,20 ± 1,92	0,610	0,325	0,780
Osmolalidad	mOsm/kg	293,45 ± 7,02	289,53 ± 2,31	291,82 ± 2,27	0,260	0,627	0,136
Lactato	mmol/L	3,17 ± 0,46	4,34 ± 0,58	3,95 ± 0,46	*0,008	*0,027	0,283

ALT: Alanin aminotransferasa, AST: Aspartato aminotransferasa C = Control, R = Tubo con tapón rojo, D = Tubo con tapón dorado. El asterisco indica una diferencia estadísticamente significativa con una P<0.05

Tabla 7. Experimento 3 Comparación de las determinaciones bioquímicas séricas de tubos de tapón rojo, dorado y control (media, desviación estándar y valor de P), sometidos a una temperatura de 30 °C por 6 horas previo a su análisis.

ANALITOS	UNIDADES	CONTROL	TAPON ROJO	TAPON DORADO	P		
		MEDIA ± D.E.	MEDIA ± D.E.	MEDIA ± D.E.	C - R	C - D	R - D
Glucosa	mmol/L	5,73 ± 0,58	4,59 ± 0,77	5,23 ± 0,45	0,029	0,162	0,148
Urea	mmol/L	4,09 ± 0,20	4,29 ± 0,29	4,37 ± 0,36	0,240	0,176	0,729
Creatinina	μmol/L	98,40 ± 9,07	95,80 ± 10,52	101,60 ± 10,45	0,687	0,619	0,407
Colesterol	mmol/L	3,95 ± 0,47	4,19 ± 0,45	4,12 ± 0,53	0,429	0,626	0,827
ALT	U/L	49,20 ± 16,48	50,20 ± 17,43	51,20 ± 17,80	0,928	0,858	0,931
Fosfatasa alcalina	U/L	66,40 ± 51,23	100,00 ± 31,34	99,20 ± 32,00	0,246	0,259	0,969
Proteínas totales	g/L	60,00 ± 3,81	63,80 ± 4,32	65,40 ± 4,28	0,179	0,068	0,573
Albúmina	g/L	30,80 ± 2,17	32,80 ± 2,95	32,20 ± 3,56	0,257	0,474	0,779
Globulinas	g/L	29,20 ± 4,97	31,00 ± 6,63	33,20 ± 5,02	0,640	0,241	0,571
Calcio	mmol/L	2,45 ± 0,10	2,50 ± 0,10	2,59 ± 0,10	0,475	0,067	0,203
Fosforo	mmol/L	1,37 ± 0,31	1,46 ± 0,12	1,53 ± 0,12	0,561	0,324	0,426
Potasio	mmol/L	4,78 ± 0,31	5,06 ± 0,40	5,03 ± 0,40	0,287	0,349	0,884
Sodio	mmol/L	147,50 ± 3,79	148,00 ± 1,00	148,40 ± 1,82	0,782	0,650	0,678
Cloro	mmol/L	116,00 ± 2,94	113,60 ± 1,14	114,00 ± 1,41	0,134	0,218	0,636
Bicarbonato	mmol/L	19,80 ± 2,28	19,00 ± 1,58	20,60 ± 2,19	0,537	0,587	0,222
Osmolalidad	mOsm/kg	293,45 ± 7,02	293,16 ± 1,80	294,62 ± 3,62	0,882	0,812	0,454
Lactato	mmol/L	3,17 ± 0,46	4,42 ± 0,51	4,09 ± 0,52	*0,004	*0,018	0,338

ALT: Alanin aminotransferasa, AST: Aspartato aminotransferasa C = Control, R = Tubo con tapón rojo, D = Tubo con tapón dorado. El asterisco indica una diferencia estadísticamente significativa con una P<0.05

Tabla 8. Experimento 4 Comparación de las determinaciones bioquímicas séricas de los tubos de tapón rojo, dorado y control (medias, desviación estándar y valor de P), sometidos a una temperatura de 30 °C por 12 horas previo a su análisis.

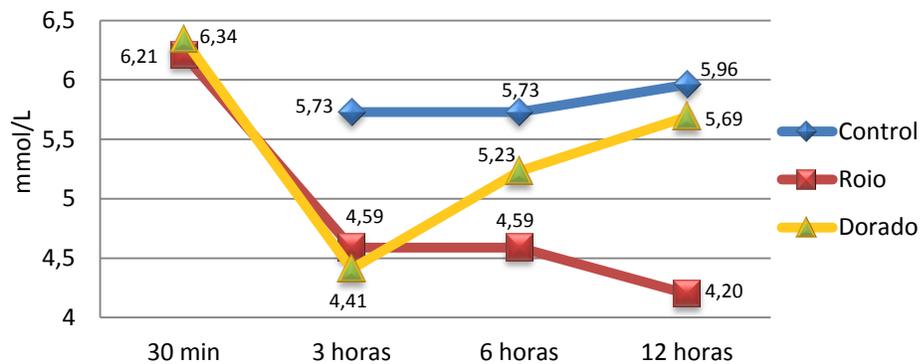
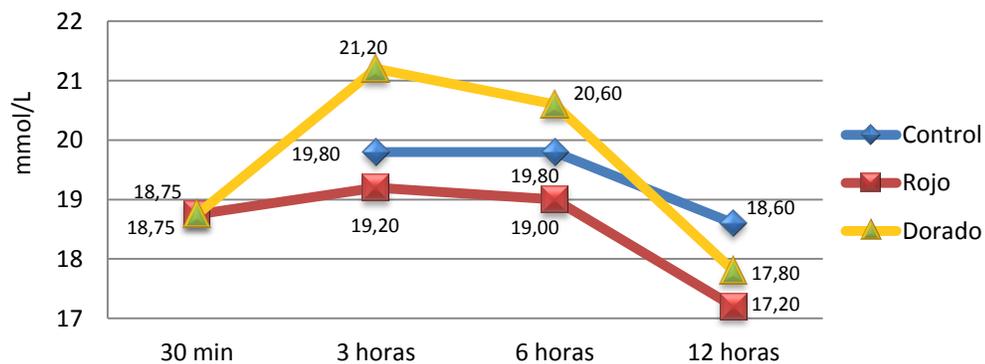
ANALITOS	UNIDADES	CONTROL	TAPON ROJO	TAPON DORADO	P		
		MEDIA ± D.E.	MEDIA ± D.E.	MEDIA ± D.E.	C - R	C - D	R - D
Glucosa	mmol/L	5,96 ± 0,68	4,20 ± 0,51	5,69 ± 0,88	*0,002	0,598	*0,012
Urea	mmol/L	4,98 ± 0,92	4,09 ± 0,98	4,46 ± 0,85	0,179	0,385	0,543
Creatinina	µmol/L	94,40 ± 13,24	92,40 ± 14,88	96,00 ± 14,47	0,828	0,860	0,708
Colesterol	mmol/L	4,78 ± 1,01	5,05±0,90	4,86 ± 0,97	0,672	0,897	0,766
ALT	U/L	30,60 ± 7,33	39,60±8,47	49,00 ± 27,39	0,110	0,185	0,484
Fosfatasa alcalina	U/L	88,20 ± 26,43	82,80 ± 26,11	86,60 ± 29,78	0,754	0,931	0,835
Proteínas totales	g/L	63,00 ± 5,15	60,20 ± 8,07	63,00 ± 3,39	0,532	1,000	0,495
Albúmina	g/L	34,00 ± 3,46	34,20 ± 4,55	35,60 ± 4,28	0,940	0,534	0,630
Globulinas	g/L	29,00 ± 5,43	26,00 ± 7,35	27,40 ± 3,71	0,484	0,601	0,714
Calcio	mmol/L	2,42 ± 0,17	2,56 ± 0,39	2,59 ± 0,40	0,467	0,392	0,906
Fosforo	mmol/L	1,28 ± 0,12	1,42 ± 0,13	1,42 ± 0,11	0,114	0,095	1,000
Potasio	mmol/L	4,82 ± 0,22	5,14 ± 0,36	5,01 ± 0,22	0,130	0,201	0,524
Sodio	mmol/L	146,60 ± 1,95	147,60 ± 2,30	147,80 ± 3,11	0,480	0,486	0,911
Cloro	mmol/L	113,40 ± 1,34	113,40 ± 1,52	114,40 ± 2,07	1,000	0,392	0,409
Bicarbonato	mmol/L	18,60 ± 2,30	17,20 ± 3,11	17,80 ± 3,77	0,442	0,696	0,791
Osmolalidad	mOsm/kg	292,61 ± 3,59	291,83 ± 4,07	294,06 ± 6,36	0,821	0,731	0,621
Lactato	mmol/L	3,86 ± 1,42	6,91 ± 2,42	4,46 ± 1,04	*0,042	0,464	0,072

ALT: Alanin aminotransferasa, AST: Aspartato aminotransferasa C = Control, R = Tubo con tapón rojo, D = Tubo con tapón dorado. El asterisco indica una diferencia estadísticamente significativa con una P<0.05

Tabla 9: Abreviaturas y símbolos que se usaron en este trabajo de tesis.

ALT	Alanin aminotransferasa
AST	Aspartato aminotransferasa
GGT	Gamma glutamiltransferasa
FA	Fosfatasa alcalina
CK	Creatina cinasa
SPSS	Statistical package for the social sciences.
TR	Tubo de tapón rojo
TD	Tubo de tapón dorado
C	Control

11. GRAFICAS

Grafica 1: Medias obtenidas en el analito de glucosa, en los 4 experimentos.**Grafica 2: Medias obtenidas en el analito del bicarbonato, en los 4 experimentos.**

Grafica 3: Medias obtenidas en el analito del lactato, en los 4 experimentos.

