



Determinación comparativa por espectrofotometría y un analizador bioquímico veterinario de 3 parámetros en plasma de caninos.

García Díaz Lorena; Alejo Iturvide Francisco; Márquez Lucio María Azucena
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato

Resumen

Las mediciones bioquímicas sirven para la obtención de parámetros de interés clínico los cuales sirven de apoyo para el diagnóstico e identificar animales con algún problema de salud. En este trabajo se utilizaron muestras biológicas sanguíneas (plasma) de animales elegidos aleatoriamente para realizar mediciones comparativas tanto por la técnica de espectrofotometría UV-Vis como con el analizador bioquímico EMP-168. Los kits bioquímicos Spinreact y Wiener Lab fueron seleccionados para trabajar con ellos a fin de tener una comparación de los resultados obtenidos de ambos kits. Los resultados mostraron que los valores de las mediciones realizadas con el kit Wiener Lab fueron más precisos que los obtenidos Spinreact con ambos instrumentos de análisis, sin embargo, el analizador bioquímico EMP-168 fue más exacto en las mediciones comparado con el espectrofotómetro. Esto permitió una mejor clasificación de los animales en sanos y animales enfermos. Las mediciones obtenidas se pueden utilizar como referencia en los laboratorios clínicos veterinarios.

Palabras clave: Espectrofotometría, Bioquímicas, Medición, Laboratorio.



Introducción

La calidad y utilidad de los análisis de laboratorio dependen de varios aspectos entre ellos el manejo de las muestras, ya que es necesario seguir las indicaciones, el mal manejo o descuido puede hacer que la muestra se deteriore o simplemente se pierda (Lamping, 2014). El principal objetivo del transporte de muestras (material biológico) es mantenerlo con un deterioro mínimo o nulo (Velasco , y otros, 2008).

El perfil bioquímico tiene como objetivo analizar cierto tipo de sustancias que están presentes en la sangre, así como dar información sobre el estado de los diferentes órganos (Rodriguez, 2013).

Los análisis bioquímicos mediante kits colorimétricos fueron realizados en este proyecto mediante kits de Spinreact y Wiener Lab, los cuales se llevaron a cabo por lecturas de espectrofotometría y utilizando el analizador bioquímico EMP-168. Para las determinaciones se utilizaron ambos reactivos comparando los analitos en diferentes concentraciones.

En cuanto al cuadro clínico éste varía según el momento evolutivo de la enfermedad y muchas veces coexistirán simultáneamente dos o más afecciones. Por otro lado, algunas pruebas de laboratorio útiles para patologías humanas no resultarían confiables al aplicarlas en animales (Marquez, 2004), por ello es importante tener conocimiento de los valores de referencia de cada especie, para cada edad y sexo, así como estar enterado de las variaciones propias de las diferentes patologías de la medicina interna (Fuente, 2013).

Objetivos

1. Obtención de mediciones por espectrofotometría y analizador bioquímico EMP-168.
2. Comparación de análisis bioquímicos por el uso de 2 kits, Spinreact y Wiener Lab.



Justificación

Existen en la literatura valores de referencia de parámetros bioquímico – clínicos por lo que éstos pueden ser usados como referencia para análisis comparativos. Con este proyecto se pretende aportar datos básicos e imprescindibles para el manejo clínico de caninos utilizando dos equipos diferentes como determinaciones por kits comerciales diferentes. La estandarización servirá como base de datos para posteriores investigaciones, ya que las tasas de afectación que se presenta en los animales hacen necesario que aumente la posibilidad de obtener diagnósticos más rápidos y acertados. Las pruebas de laboratorio básicas del área de bioquímica nos ayudan a tener a disposición parámetros de referencia confiables para la toma de decisiones en los centros que albergan caninos, los cuales se encargan de la conservación y de proporcionar una mejor calidad de vida a los individuos albergados, así como fomentar y cuidar la salud de sus animales y ser vigilantes epidemiológicos. La distribución de los animales a muestrear se encuentra en la ciudad de Irapuato, Gto. Este lugar presta y asistencia médica veterinaria de manera constante a los animales que alberga, por tal razón se considera de vital importancia la estandarización de estos valores para los caninos, además del desarrollo de las técnicas metodológicas que permitan el montaje de un laboratorio de análisis en bioquímica clínica veterinaria.

Metodología

En el presente estudio se realizó en la ciudad de Irapuato, Guanajuato, donde se compararon 3 parámetros bioquímicos en caninos. Estos parámetros corresponden a Colesterol, Fósforo y Magnesio. Para las determinaciones se procesaron 6 muestras por cada uno de los 3 parámetros con los reactivos Spinreact y Wiener Lab además de 2 instrumentos de análisis, un espectrofotómetro UV-Vis y el analizador bioquímico EMP-168.

El estudio se dividió en 2 fases: pre-analítica y analítica para poder abarcar todas las dimensiones que conlleva el análisis bioquímico en caninos.

En la fase pre-analítica se recibieron las muestras de animales aleatoriamente. Cada muestra estuvo identificada con los siguientes datos: fecha, hora y



conservador utilizado. El transporte de las muestras debe realizarse en un ambiente refrigerado. Cuando las muestras no son refrigeradas es conveniente que las muestras lleguen al laboratorio en menos de 4 horas, las cuales deben transportarse en un lugar fresco y protegido de los rayos directos de la luz solar (Juste de Santa-Ana & Carreton Gomez , 2015)

En la fase analítica se utilizó el plasma de cada muestra, la cual se obtiene por centrifugación a 3000 rpm por un lapso de 15 minutos.

Los análisis bioquímicos- clínicos se realizaron con 6 muestras en base a la medición absorbancias utilizando un espectrofotómetro y el analizador bioquímico EMP-168. La preparación de las muestras fue de acuerdo los lineamientos y metodología de cada fabricante (Tabla 1).

Tabla 1. Lineamientos metodológicos de los kits Spinreact y Wiener Lab.

SPINREACT						
Analito	Unidad	Temperatura	Longitud	Volumen Muestra	Volumen Patrón	Volumen Reactivo
Colesterol	mg/dl	37°C /15-25°C	505nm	3.33 uL	3.33 uL	0.333ml
Fosforo	mg/dl	37°C /30-25°C	340nm	3.33 uL	3.33 uL	0.333ml
Magnesio	mg/dl	37°C /15-25°C	546nm	3.33 uL	3.33 uL	0.333ml
WIENER LAB						
Analito	Unidad	Temperatura	Longitud	Volumen Muestra	Volumen Patrón	Volumen Reactivo
Colesterol	mg/dl	37°C-25°C	505nm	10 uL	10 uL	1 ml
Fosforo	mg/dl	25°C	340nm	10 uL	10 uL	1 ml
Magnesio	mg/dl	25°C-15°C	510nm	10 uL	10 uL	1 ml

Resultados

Los valores de las determinaciones bioquímicas obtenidos con los kits Spinreact y Wiener Lab de acuerdo al instrumento de análisis utilizado fueron comparados entre sí y con valores de referencia. Aunque los valores tienden a variar entre los diferentes tratamientos o combinaciones, los resultados muestran una mayor consistencia o robustez cuando son obtenidos con el analizador bioquímico EMP-168 comparados con los obtenidos por espectrofotometría UV-Vis. En cuanto al kit



usado en la determinación no existe una clara diferencia en los valores ya que si bien se puede apreciar una ligera tendencia a que los valores obtenidos con los reactivos Wiener Lab sean más homogéneos y estén dentro de los valores de referencia, parece influir más el tipo de instrumento utilizado y posiblemente el manejo correspondiente para su análisis.

En la Tabla 2 se pueden apreciar los valores obtenidos de las determinaciones (Colesterol, Fosforo y Magnesio) bajo estudio. Los resultados para el colesterol con el analizador bioquímico muestran que la mayoría de los valores obtenidos usando el kit Wiener Lab caen dentro de los valores de referencia, contrario a los obtenidos con los reactivos Spinreact, que mostró valores fuera de los rangos de referencia.

Para el caso del fósforo considerando el análisis por espectrofotometría los resultados obtenidos indicaron que los reactivos Spinreact presentaron una mayor precisión comparados con Wiener Lab además de estar dentro de los valores de referencia. Se puede apreciar también que varios de los valores obtenidos con el analizador bioquímico y con los reactivos Wiener Lab caen dentro de los valores de referencia, sin embargo, es evidente que la dispersión de los valores entre sí es mayor reduciendo así la precisión.

El magnesio fue el analito donde la mayoría de los valores entraron en los valores de referencia. Se obtuvo en esta determinación tanto para reactivos Spinreact como Wiener Lab en ambos instrumentos (espectrofotometría y analizador bioquímico EMP-168) fue el analito más preciso, por lo que en este caso particular resulta indistinto el uso ya sea de cualquiera de los kits y/o equipos de análisis.



Tabla 2. Determinaciones obtenidas para Colesterol, Fósforo y Magnesio analizadas con los reactivos Spinreact y Wiener Lab por los equipos de espectrofotómetro UV-Vis y el analizador bioquímico EMP-168. Las celdillas de color oscuro son los valores que caen dentro de los valores de referencia, por lo se consideran animales “sanos”.

Muestra	Col-UV-SP	Col-UV-WL	Col-MP-SP	Col-MP-WL	P-UV-SP	P-UV-WL	P-MP-SP	P-MP-WL	Mg-UV-SP	Mg-UV-WL	Mg-MP-SP	Mg-MP-WL
V.R mg/dl	135-260	135-260	135-260	135-260	4.8-9.0	4.8-9.0	4.8-9.0	4.8-9.0	1.4-2.8	1.4-2.8	1.4-2.8	1.4-2.8
1	106.87	104.29	225.22	115.94	9.37	3.04	4.84	3.66	2.45	2.55	1.96	2.30
2	45.8	172.14	297.51	199.98	8.63	4.37	2.67	7.07	2.18	2.61	2.87	3.79
3	129.77	50.63	222.42	115.33	9.19	4.46	2.86	3.69	1.78	2.36	2.64	2.69
4	160.3	91.13	225.42	117.96	9.74	3.03	3.17	6.8	1.43	2.26	2.50	3.91
5	213.74	172.14	227.40	189.96	9.19	4.66	2.67	6.84	2.19	2.43	3.63	2.6
6	61.06	364.53	225.22	231.07	8.82	4.46	5.34	6.97	1.65	2.4	1.92	2.88

Col= Colesterol.
P= Fósforo.
Mg= Magnesio.
UV-SP= técnica de espectrofotometría con el kit de Spinreact.
UV-WL= técnica de espectrofotometría con el kit de Wiener lab.
MP-SP= analizador bioquímico EMP 168 con el kit Spinreact.
MP-WL= analizador bioquímico EMP 168 con el kit Wiener lab.

Conclusión

En este proyecto se analizaron determinaciones bioquímicas- clínicas en caninos, comparando los valores obtenidos mediante los reactivos de la marca Spinreact y Wiener Lab.

El kit de Wiener Lab obtuvo una ligera mejor respuesta al momento de las lecturas tanto en espectrofotometría como en el analizador bioquímico EMP-168. Las determinaciones de colesterol y magnesio fueron las lecturas que quedaron dentro de los valores de referencia indicando que los caninos se podrían considerarse “animales sanos”. El fósforo por su parte fue el analito con mayor variación independientemente del kit o del equipo utilizado de análisis, así como también respecto de los valores de referencia, por lo que es necesario revisar y homogenizar el manejo general de la muestra y el proceso de análisis. La finalidad de comparar los valores obtenidos de los kits y equipos de análisis fue la de optimizar el procedimiento para obtener resultados confiables.



Referencias

- Bush, B. (1999). *Interpretacion de los Analisis de Laboratorios Clinicos de pequeños animales*. Londres : Blackwell Sciencie.
- Coffin, D. (1952). *Laboratorio Clinico en Medicina Veteriaria* (3ra Edicion ed.). Boston, Massachusetts.
- Delgado, L. A. (2012). Determinacion del perfil hepatico de perros geriaticos mediante pruebas especificas de Laboratorio. Guayaquil, Ecuador : Universidad de Guayaquil.
- Fuente, V. C. (2013). *Manual de Patologia Clinica*. Tamaulipas, Mexico: Universidad Autonoma de Tamaulipas.
- Juste de Santa-Ana, M. C., & Carreton Gomez , E. (2015). *Fundamentos de Analisis Clinicos en animales de compañia*. (1ra edicion ed.). Barcelona, España: Multimedica Ediciones Veterinarias .
- Kolb, E. (1987). *Fisiologia Veterinaria* (2da Edicion ed.). España: Acribia.
- Lamping, C. A. (2014). *Manual de Diagnostico con enfasis en el Laboratorio Clinico Veterinario* (1ra Edicion ed.). Managua, Nicaragua: Carrera de Medicina Veterinaria- Facultad de Ciencia Animal- Universidad Nacional Agraria.
- Marquez, A. C. (2004). Generalidades sobre Hematologia . Colombia : Universidad de Caldas.
- Meseguer, J. P. (1999). *Manual de propedeutica y biopatologia clinicas veterinarias* (2da Edicion ed.). Zaragoza : MIRA.
- Rodriguez, J. R. (2013). Aproximacion al Analisis de Bioquimica Sanguinea y Uroanalisis en Animales Silvestres y Especies no Convencionales.
- Salgado, R. V. (2009). *Manual de Practicas Bioquimica Clinica* . Ciudad de Mexico: Universidad Autonoma de Mexico.
- Sodikoff, C. (2001). *Pruebas Diagnosticas y de Laboratorio en Pequeños Animales* (3ra Edicion ed.). Estados Unidos : Mosby Inc.
- Velasco , J., Araque, M., Araujo, E., Longa, A., Nieves, B., Ramirez, A. C., & Kiralba Sanchez , E. (2008). *Manual practico de bacteriologia clinica* (1ra Edicion ed.). Venezuela: Editorial Venezuela C.A.

