

2014

Comparación de los valores de glucemia en sangre completa, suero y plasma de una población de caninos clínicamente sanos en Bogotá

Margarita Rosa Arenas Plata
Universidad de La Salle, Bogotá

Follow this and additional works at: https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria



Part of the [Small or Companion Animal Medicine Commons](#)

Citación recomendada

Arenas Plata, M. R. (2014). Comparación de los valores de glucemia en sangre completa, suero y plasma de una población de caninos clínicamente sanos en Bogotá. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/229

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Facultad de Ciencias Agropecuarias at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Medicina Veterinaria by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

**UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA**



PROYECTO DE TRABAJO DE GRADO

Comparación de los valores de glucemia en sangre completa, suero y plasma de una población de caninos clínicamente sanos en Bogotá

MARGARITA ROSA ARENAS PLATA

Bogotá D.C.

2014

**UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA**



PROYECTO DE TRABAJO DE GRADO

Comparación de los valores de glucemia en sangre completa, suero y plasma de una población de caninos clínicamente sanos en Bogotá

MARGARITA ROSA ARENAS PLATA
Código: 14071145

Director
JAVIER FERNANDO RIVAS GUERRERO. MV. Esp. PhD.

Bogotá D.C.

2014

APROBADO

DIRECTOR

Dr. Javier Fernando Rivas Guerrero

JURADO

Dr. Miguel Ladino Silva

JURADO

Dr. Luís Rafael Neira Rairan

DIRECTIVOS

RECTOR	Hermano Carlos Gabriel Gómez Restrepo
VICERRECTOR ACADEMICO	Hermano Fabio Coronado Padilla
VICERRECTOR DE PROMOCION Y DESARROLLO HUMANO	Hermano Frank Leonardo Ramos Baquero
VICERRECTOR ADMINISTRATIVO	Mauricio Fernández Fernández
VICERRECTOR DE INVESTIGACION Y TRASFENRECIA	Eduardo Ángel Reyes
DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS	Dra. Claudia Aixa Mutis Barreto
DIRECTOR DE PROGRAMA MEDICINA VETERINARIA	Dr. Juan Fernando Vela Jiménez

COMPROMISO

Los trabajos de grado no deben contener ideas que sean contrarias a la doctrina católica en asuntos de dogma y moral.

Ni la universidad, ni el rector, ni el jurado calificador son responsables de las ideas expuestas por el graduado

AGRADECIMIENTOS

Le doy gracias a Dios y a la Virgen por brindarme sabiduría y conocimiento para empezar y culminar este proyecto de grado y terminar mi profesión.

Infinitos agradecimientos a mis padres y familiares sin ellos esto no podría haberse hecho realidad. En especial a mi padre quien fue quien me dio su apoyo incondicional y consejos y a mi madre que en paz descansa que me da la fuerza para sobrepasar cualquier dificultad y me brinda su protección todos los días de mi vida.

Agradezco al Doctor Javier Rivas por haberme asesorado en la tutoría, por su gran aporte de conocimiento y el estímulo investigativo, gracias por su paciencia y constante acompañamiento durante este proceso, También a la Doctora Pilar Calvo por brindarme su valiosa colaboración en el desarrollo de este proyecto, a la Doctora Leslie Moreno en el por brindarme las instalaciones del laboratorio clínico y por su hospitalidad en todo momento, así mismo al Doctor Fernando Munar y a La Doctora Francy Callejas por el tiempo que me brindaron en capacitarme y por su amabilidad , a todas estas personas por su apoyo constante ya que sin este no hubiera sido posible el éxito de este proyecto.

COMPARACIÓN DE LOS VALORES DE GLUCEMIA EN SANGRE COMPLETA, SUERO Y PLASMA DE UNA POBLACIÓN DE CANINOS CLÍNICAMENTE SANOS EN BOGOTÁ

RESUMEN

En el presente estudio se realizó la medición de glucosa en tres submuestras provenientes de una misma muestra, por medio de un glucómetro portátil marca ACCU-CHECK performan nano® de Laboratorios Roche. Se incluyeron 40 perros clínicamente sanos con ayuno de 12 horas, a cada ejemplar se le realizó la toma de una muestra de sangre de la vena cefálica y se procedió a valorar la glucosa con el uso del glucómetro portátil luego de esta misma toma, se distribuyó en tres diferentes submuestras se centrifugó y se midió la glucosa en sangre entera, plasma y sueros de diferentes tubos. Se realizó una estadística descriptiva empleando el modelo *one way* – ANOVA con post test Tukey, previa verificación de la prueba de homocedasticidad, además se utilizó un análisis de correlación simple entre los resultados de glicemia obtenidos para determinar la asociación estadística. Todo se trabajará con un margen de confiabilidad del 5% ($P < 0.05$). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de glucemia obtenidos en sangre entera comparadas con plasma y sueros. En conclusión, la glucemia obtenida mediante la utilización de glucómetros portátiles presenta alteraciones cuando es medida en sangre entera comparativamente con plasma y suero.

Palabras Claves: Glucómetro portátil, glucosa, plasma, suero, sangre.

ABSTRACT

In the present study glucose measurement was performed in three subsamples from the same sample using a portable glucometer brand ACCU-CHECK performan nano® Roche laboratories. 40 clinically healthy dogs was included with 12-hour fast, each specimen was performed taking a blood sample from the cephalic vein and proceeded to assess glucose using portable glucometer after this same power was distributed in three different subsamples was centrifuged and the glucose was measured in whole blood, plasma and serum from different tubes. Descriptive statistics were performed using the model one way - ANOVA with Tukey post test, after verification of proof of homoscedasticity, plus an analysis of simple correlation between blood glucose results obtained are used to determine the statistical association. Everything will work with a reliability margin of 5% ($P < 0.05$). Statistically significant differences between the values obtained in whole blood glucose compared with plasma and sera were found. In conclusion, glycemia obtained using portable glucose meters are alterations when measured in comparison with whole blood plasma and serum.

Keywords: portable glucometer, glucose, plasma, serum, blood.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
OBJETIVO GENERAL	4
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
HIPÓTESIS	5
MATERIALES Y MÉTODOS	6
Método	6
1. MARCO TEÓRICO.....	7
2. METODOLOGÍA.....	12
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
3.1 RESULTADOS.....	13
4. DISCUSIÓN.....	16
5. IMPACTO E INDICADORES	18
ANEXOS	19
Anexo 1.....	19
Anexo 2.....	20
Anexo 3.....	21
Anexo 4.....	21
REFERENCIAS	22

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Análisis estadístico de los datos brutos de los valores de glucemia	15
Tabla 2. Análisis estadístico comparaciones por parejas.....	15
Tabla 3. Análisis estadístico de la diferencia neta	17
Tabla 4. Correlación.....	17

LISTA DE IMÁGENES

Imagen 1. El uso de la enzima Glucosa Oxidasa para la monitorización de la glucosa....22

INTRODUCCIÓN

Los exámenes de laboratorio son de vital importancia en complicaciones agudas y crónicas de cualquier enfermedad, así como también en diversas patologías que cursan con variaciones de la glucemia. Actualmente, el uso en clínica de monitores de glucemia se ha incrementado debido a la utilidad práctica que estos ofrecen, ya que permiten un monitoreo rápido y sencillo de la glucemia, haciendo más eficiente el tratamiento médico y la toma de decisiones por el Médico Veterinario. En el presente estudio se realizará en la ciudad de Bogotá en la Clínica de pequeños animales de La Universidad de La Salle, donde se busca correlacionar la medición de los valores de glucosa en sangre completa, plasma y suero, a través del medidor de glucosa portátil Accu Check Nano®, estableciéndose la comparación y la correlación entre dichos valores de glucemia.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La valoración de la glucemia en pacientes veterinarios es muy importante ya que la glucosa es el principal sustrato para la producción de la energía en la mayoría de los tejidos, siendo la única fuente de energía para las células del cerebro. La normoglicemia es un estado importante en la homeóstasis, no obstante, diferentes patologías pueden afectar la concentración sanguínea de glucosa en pacientes caninos, especialmente cachorros y geriátricos, debido al metabolismo glucídico propio de estas dos edades (1,23) . Además, hay que considerar que la glucemia en condiciones normales puede sufrir grandes variaciones con el transcurrir del día debido al ejercicio, estrés, alimentación o tratamiento con algunos fármacos, tales como la xilacina, los corticoides, benzimidazoles, etc,²⁵. Por lo tanto, un análisis único de los niveles de glucosa sanguínea solo revelará la condición glucémica del animal en un momento dado. Sin embargo, la medición rutinaria de la glucemia en pacientes caninos presentados a consulta clínica veterinaria en Colombia no es común, lo cual puede conducir a fracasos terapéuticos en estos pacientes¹⁴. Se considera que el estado de normoglicemia en pacientes caninos se encuentra entre el rango de 60 – 130 mg/dl y que los valores de glucosa sanguínea inferiores o superiores al mismo determinan los estados de hipoglicemia e hiperglicemia respectivamente .La hiperglicemia entre los 130 y 180 mg/dl es por lo general clínicamente inaparente y es un hallazgo ocasional detectado durante la patología clínica o puede ser subsecuente a estados temporales de la actividad metabólica de la glucosa corporal como situaciones de estrés o un periodo postprandial debido a dietas altas en monosacáridos o disacáridos²³. Por su parte, los valores superiores a los 180 mg/dl pueden generar manifestaciones clínicas como poliuria y polidipsia compensatoria, polineuropatía simétrica, asociados a enfermedades como diabetes mellitus, cetoacidosis diabética, hiperadrenocorticismos o neoplasias de células alfa pancreáticas productoras de glucagón. De forma contraria, los valores de glucosa sanguínea entre los 45 y 60 mg/dl por lo general son carentes de manifestaciones clínicas, y estos suelen manifestarse en variada medida por debajo de los 45 mg/dl, como resultado de una neuroglucopenia y estimulación del sistema simpático adrenal inducido por la hipoglicemia expresado en convulsiones, depresión, ataxia, ceguera y hasta estado de coma. Estas manifestaciones clínicas, pueden asociarse de manera rutinaria con procesos como hipoglicemia del cachorro, neoplasias pancreáticas particularmente el insulinoma, trastornos de la gluconeogénesis y sepsis grave, entre otras. Anteriormente la valoración de glucosa se hacía bajo los métodos de absorción por medio de reactivos como glucosa oxidasa, después de estas técnicas los médicos veterinarios optaron por usar los métodos humanos, hoy en día son usados en muchas clínicas veterinarias los medidores de glucosa portátiles como Accu Check Nano®.

¹ (Amstutz.H.E., 2000). El manual Merck de veterinaria. 5ta edición. Océano editorial S.A.

²³ (Nelson R. C., 2005). Medicina Interna de Pequeños Animales. Quinta Edición

²⁵ (Perez Fernandez, 2010). Farmacología Veterinaria.

¹⁴ (Holgin, 2009). Correlación de los niveles de glicemia con diversas patologías en caninos (Canis Familiaris) cachorros y geriátricos presentados a consulta en la clínica de pequeños animales. Universidad de Tolima. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, Pags 45-47.

Este trabajo de grado se derivó a partir del cuestionamiento de la variabilidad en los niveles de glucosa en sangre entera, plasma, y sueros, a pesar de que provienen de la misma muestra de sangre entera, cada una de estas fue valorada por un glucómetro portátil y comparada. En la medición de dichas muestras se plantea la problemática de la valoración de glucemia en diferentes submuestras procedentes de una misma muestra y de un mismo paciente, para determinar si dichas diferencias son significativas y cuál de estos valores puede ser utilizado en la clínica veterinaria que pueda ser el más confiable o si se pueden utilizar los tres valores pero hasta qué rango se puede determinar que esa diferencia es aceptable.

⁷ (Davila Esqueda & Silva Ruiz, 2000). Comparación de las determinaciones de glucosa en sangre por química seca y química húmeda: su influencia en la toma de decisiones terapéuticas. *Redylac*. Pags 75-78.

⁹ (García & Maside, 2009). *Catalogo de productos*. Portugal: BD Diagnostics, Preanalytical Systems.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Comparar los valores de glucemia en sangre completa, suero y plasma, obtenidas de una misma muestra biológica de una población de caninos clínicamente sanos en Bogotá.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Medir los valores de glucosa en sangre completa, plasma y suero con glucómetro portátil ACCU CHECK NANO® en perros sanos.
- Correlacionar y analizar los valores de glucosa obtenidos de las diferentes submuestras biológicas de un mismo paciente.
- De acuerdo a los resultados, recomendar cual muestra puede ser la más fiable para medición de glucosa en pacientes veterinarios.

HIPÓTESIS

H1:Teniendo en cuenta que la medición de la glucemia en diferentes componentes sanguíneos obtenidos de una misma muestra, presenta resultados variados a pesar de su mismo origen; sería útil determinar qué rangos de variación de estos resultados pueden considerarse normales.

H2:Teniendo en cuenta que la medición de la glucemia en diferentes componentes sanguíneos obtenidos de una misma muestra, presenta resultados variados a pesar de su mismo origen; sería útil saber si se pueden utilizar los tres pero hasta qué rango se puede determinar que esa diferencia es aceptable

MATERIALES Y MÉTODOS

Método

El estudio se llevó a cabo acuerdo a los parámetros éticos de la Universidad de La Salle, que está ubicada en la Cra. 7 No. 172-85 en el barrio San Cristóbal Norte.

40 pacientes caninos machos y hembras adultos (4 a 8 años), sanos y en ayuno de 12 horas fueron sometidos a examen clínico de rutina para incluirlos en el presente estudio. En horas de la mañana, una única persona, colecto 2 mL de sangre entera mediante venopunción de la vena cefálica. Posteriormente se dividió esta muestra en cantidades iguales (0.66mL) en los tubos de tapa lila, roja y amarilla (5, 14, 27, 17,18). Una gota de sangre, plasma suero tapa roja y tapa amarilla que contiene un polímero gel, separador de hematíes, fueron tomadas para evaluar la glucemia mediante la utilización del AccuCheck Nano. La muestra de plasma y suero fueron obtenidas mediante centrifugación a 2400 rpm durante 3 minutos.

Análisis Estadístico

La normalidad de los datos fue evaluada mediante la prueba de Shapiro Wilk. Posterior a esto se analizaron los datos mediante el test de *one way*-ANOVA con post test de Tukey. El nivel de significancia fue de 5% ($P < 0,05$). (Statistix 8.0®)

⁵ (Crossley, 2009) . Test rápido de determinación de glicemias (tiras reactivas): validación por métodos de laboratorio. Hospitales Veterinarios. Pág. 10-14

¹⁴ (Holgin, 2009) . Correlación de los niveles de glicemia con diversas patologías en caninos. Revista Colombiana de Ciencia Animal. Págs.45-47.

¹⁷ (Jhonson, 2009) . Comparasion of a human portable blood glucose monitor , a veterinary portable blood glucose monitor and an automated chemistry analyzer for measurind canine blood glucose concentration. *Pathobiology Publications and other Works*. Pags 1309-1313.

²⁸ (Teixeira, 2008). Glicemia em cães (Canis familiaris) com glucômetro digital portátil e teste laboratorial convencional. *Jornal Brasileiro de Ciência Animal*. Pags25-34.

1. MARCO TEÓRICO

La importancia en la medición de azúcares corporales data desde el año 1500 a. de C., cuando en el antiguo Egipto y en la India, se escriben textos médicos en los cuales se mencionan ciertas enfermedades metabólicas. A finales del siglo XVII, se demuestra con métodos en laboratorio, el contenido de azúcar en orina, y posteriormente en sangre. En 1965, la compañía Ames, división de la Corporación de Laboratorios Miles, actualmente conocida como Bayer, desarrolló un producto llamado Detrostix. Estas tiras eran reactivas al papel, a las cuales se le agregaba una gota de sangre capilar, se dejaba que la sangre estuviera en contacto con la tira lo cual desarrollaba un color azul con el que lo podían comparar en la escala colorimétrica.

En 1970 Anton Clemens recibe la primera patente para un medidor de glucosa en sangre portátil llamado la reflectancia Meter Ames, que proporcionaba una lectura basada en la cantidad de luz sobre el color azul de la tira. El instrumento se ha utilizado tanto a nivel intrahospitalario como extrahospitalario, para tomar decisiones que afectan la terapia y mantener los niveles de glucemia dentro del intervalo normal con el propósito de evitar complicaciones²⁰

Posteriormente se encontraron equipos para medir glucosa con química seca y química húmeda, hoy en día se mide en medicina veterinaria los niveles de glucemia con pequeños monitores (también llamados glucómetros) que se han ido incrementando en forma paulatina, significando para los clínicos una gran ayuda y, para los dueños de los pacientes diabéticos, la posibilidad de monitorear a sus mascotas en el domicilio²⁰

El medidor de glucosa ACCU – CHEK Performa Nano del Laboratorio Roche tienen dos partes esenciales: una reacción enzimática y un detector. La porción enzimática se encuentra en un estado deshidratado perteneciente a una tira desechable. La glucosa de la muestra de sangre del canino al entrar en contacto con la porción enzimática se rehidrata y reacciona con las enzimas, para producir un producto que puede ser detectado. Algunos medidores generan peróxido de hidrógeno o un intermediario que puede reaccionar con un colorante, lo que resulta en un cambio de color proporcional a la concentración de glucosa en solución. Otros medidores incorporan las enzimas en un biosensor que genera un electrón que es detectado por el medidor. Hay tres reacciones enzimáticas principales utilizados por los medidores de glucosa: glucosa oxidasa de glucosa, glucosa deshidrogenasa y hexoquinasa. Cada enzima tiene ventajas y limitaciones características.

Todos los medidores son susceptibles al calor y al frío, debido a que las enzimas son proteínas que se pueden desnaturalizar y llegar a ser inactivadas a temperaturas extremas. Aunque se han empaquetado en un estado seco, la exposición de las enzimas a la humedad puede rehidratar prematuramente las proteínas y limitar su reactividad cuando se utiliza para la prueba de un paciente. Los reactivos desechables para la medición de glucosa, deben ser protegidos de las temperaturas extremas y de la humedad. Tales condiciones podrían ocurrir durante el transporte de los reactivos fuera en el calor del verano o el frío del invierno. La porción del detector se compone de la parte electrónica, por lo que también debe ser protegida de las temperaturas extremas, y de la humedad²

² (Bergental R.M., 2008). Evaluating the accuracy of modern glucose meters. *Insulin*. Págs 5–14.

²⁰ (Lara & Oliveira, 2004). Variación entre los valores de glucemia obtenidos con glucometro portátil digital, en base a la técnica de antiseptia realizada en piel, previo a la toma de la muestra. Universidad Francisco Marroquín.

La glucosa es requerida por el organismo continuamente como una fuente de energía para todas las células del cuerpo y debe ser mantenida a niveles normales en el plasma. Debido a los aumentos o disminuciones en los niveles de glucosa se hace necesario poder establecer los valores de glucosa en los animales y poder asociarlos a las condiciones climáticas de los mismos. Para poder analizar de manera más precisa los valores de glucosa en sangre es necesario considerar diferentes factores como: la edad de los animales, la toma de la muestra, y el estrés al que es sometido el animal. La hemólisis es otro factor que puede intervenir en la determinación de la muestra, esta resulta de la liberación de componentes intracelulares en el fluido sanguíneo por la pérdida de la polaridad de las células de la membrana y el gradiente de carga o por la ruptura de las células de membrana ¹⁵

La dieta suministrada a los pacientes influye de acuerdo a su contenido y calidad en el resultado que se obtenga al medir glucosa de acuerdo a ⁶ ya que los aminoácidos y los carbohidratos son compuestos que contienen carbono y pueden proporcionar energía al organismo, por lo que entre mayor sea el consumo de estos proveerán mayor energía al organismo. Hay distintos factores que influyen en el mantenimiento normal de la glicemia siendo los dos fundamentales la liberación de glucosa por el hígado y la utilización de la glucosa por los tejidos. Algunos de los procesos enzimáticos que intervienen en los dos mecanismos son regulados por hormonas ³

El suero o plasma se pueden usar como muestras para determinar glucosa en sangre. Para una determinación de glucosa confiable en mamíferos se utiliza el fluoruro de sodio para inhibir la glucólisis y tener una mayor precisión en la determinación de glucosa, la destrucción enzimática de la glucosa (glucólisis) por hematíes y leucocitos es proporcional a la temperatura a la que se conserve la sangre, siendo la máxima de 37 grados centígrados ⁴

Es importante valorar los niveles de glucosa en nuestros pacientes ya que la obtención de los valores de glucosa con glucómetros digitales facilita la evaluación del control metabólico de los pacientes y no debe sustituir la evaluación diagnóstica general hecha por el médico veterinario tratante. Estos monitores utilizan el método de la glucosa oxidasa en tiras reactivas (química seca), de preferencia en sangre capilar. Son un sistema rápido para determinar glucemia, constituyendo una medición cuantitativa de ella, expresando la glucosa sanguínea en mg/dl o en mmoles/l. Para transformar estos últimos en mg/dl, se debe multiplicar por 18. Los valores obtenidos con este sistema, respecto a los métodos de referencia utilizados en laboratorios establecidos, se correlacionan en forma significativa registrando valores levemente inferiores con un coeficiente de correlación de aproximadamente de un 15%. Las variaciones son consecuencia de diversas variables, como lo son la humedad relativa del aire, la condición fisiológica del paciente, el manejo del operador y laboratorio fabricante, entre otros.

³(Bondi, A. A.1989). *Nutrición Animal*. España: Acribia.

⁴ Burgos, L. c. (2010). *Medición y comparación de la glucosa en muestras de suero y plasma, en ñandues (Rhea americana) sometidos a distintas condiciones de temperatura*. Bogotá: Universidad de La Salle.

⁶(Cunningham, J., & Klein, B. 2009). *Fisiología Veterinaria*. España: Elsevier.

¹⁵ (Hrubec.2002). Plasma versus serum: Specific differences in biochemical analyte values. *Journal of avian medicine and surgery*. Pags 101-105.

La glucosa se puede tomar de tres muestras

- Sangre completa que contiene todos los elementos celulares de la sangre: eritrocitos, leucocitos y plaquetas y que se toma directamente de la vena cefálica o yugular de la cual se fraccionan dos muestras una que se mide directamente en el glucómetro portátil Accu Check Nano® y la otra que se sirve en el tubo tapa lila con anticoagulante EDTA donde se obtiene plasma por centrifugación con un 90% agua y un 10% de sustancias disueltas.
- El tubo tapa roja que no contiene anticoagulante, por lo tanto, sirve para las determinaciones bioquímicas de rutina: creatinina, transferasas, etc., además de las determinaciones serológicas. El suero es el líquido sobrenadante sobre el coágulo sanguíneo, después de centrifugado. Se trata de una parte del plasma, pero sin fibrinógeno ni protrombinas.
- El tubo tapa amarilla que contiene un polímero gel separador inerte⁹ que permite la separación de la muestra especialmente utilizado para muestras de bicarbonato, lo importante es que también es al vacío con 4 ml de sangre y no se homogeniza ya que al momento de centrifugar separa los elementos más pesados dejando solo el suero para medir.

La obtención de la muestra de sangre es a partir de la venopunción que se hace de la vena cefálica o de la vena yugular, para la medición de la glucosa, muchos veterinarios utilizan glucómetros portátiles, tomando la muestra de sangre por punción de la oreja o corte de una uña⁸

- El anticoagulante empleado es adecuado al tipo de análisis a efectuar. Entre los más usados están la heparina, EDTA, citratos, oxalatos y fluoruros. Cada uno tiene sus indicaciones y contraindicaciones específicas, las que se deben conocer antes de usar. Para mezclar y evitar la hemólisis de la sangre se debe agitar por inversión con movimientos moderados, evitando la formación de espuma. Se toma una gota de sangre completa enfrente de la ventana amarilla de la tira reactiva esta se inserta en el medidor de glucosa portátil Accu-Check Performa Nano®.
- Enviar la muestra al laboratorio, se procede a centrifugar los tubos tapa lila, tapa roja y tapa amarilla, utilizando la Centrifugadora Clay Adams® Brand sero – fuge Clay Adams Sero-Fuge II: Una centrifuga de doble velocidad, que se utiliza para realizar una agrupación de sangre, tipo de sangre, así como para aplicaciones de lavado de células²¹

⁸ (Escobar, D. 2010). *Pruebas de laboratorio en la emergencia II*. . Guayaquil, Ecuador: Proceedings of the 2º Congreso ECVECCS Emergencia y Cuidados Críticos Veterinarios.

⁹ (Garcia , J., & Maside, C. 2009). *Catalogo de productos* . Portugal: BD Diagnostics, Preanalytical Systems.

¹² (Hardy, R. 1988). *Diabetes Mellitus en el perro y el gato*. Minnesota: Universidad de Minnesota.

El establecimiento de la precisión de los medidores de glucosa es difícil porque la glucosa es inestable en la sangre entera, y puede ser necesario transportar las muestras a un laboratorio para la comparación con los métodos de un laboratorio. Los retrasos en el transporte pueden dar lugar a sesgos entre los medidores de glucosa y métodos de laboratorio debido a la glucólisis. Los eritrocitos metabolizan la glucosa, por lo que la glucólisis disminuirá la concentración de glucosa en una muestra a una velocidad de 5-7% por hora, siempre y cuando el suero y el plasma permanezcan en contacto con las células rojas de la sangre. Las tasas de glucólisis son aún mayores en leucocitosis o bacteriemia. Los inhibidores de la glucólisis (fluoruro o yodoacetato) pueden inhibir la glucólisis, pero ya que son moléculas cargadas, toman 1-2 horas para atravesar las membranas celulares y ser plenamente eficaces. La glucólisis continuará durante ese tiempo. Por lo tanto el uso de muestras de sangre entera para las comparaciones de precisión requiere la consideración de los efectos de la glucólisis y la separación del suero y del plasma para análisis de laboratorio dentro de un período razonable de tiempo, generalmente dentro de 30 minutos a partir del análisis de sangre entera en un medidor de glucosa.

Para la determinación de la precisión, de los niveles de glucosa de la misma muestra idealmente se deben comparar por análisis del medidor de glucosa y por un método de referencia o comparativa. Desafortunadamente, éste es técnicamente difícil debido al pequeño volumen de sangre capilar que se puede obtener a partir de un pinchazo en el dedo. Las comparaciones de precisión se han llevado a cabo mediante la comparación de una muestra capilar se analizaron en un medidor de glucosa en contra de una muestra de plasma venosa recogida al mismo tiempo y se analizaron por un método de laboratorio.¹⁵

Las diferencias entre estas diversas funciones de corrección y de calibración son una fuente de variabilidad entre los muchos modelos de medidores de glucosa en el análisis de la misma muestra. Los hematocritos de pacientes hospitalizados y de pacientes con enfermedad aguda puede que no coincidan con los hematocritos normales asumidos de las muestras utilizadas por el fabricante para configurar la calibración del medidor o en funciones de corrección, y esto puede ser una fuente de sesgo al utilizar los medidores de glucosa en estos pacientes.²¹

Los medidores de glucosa son utilizados por una población diversa de pacientes, que representan a todas las edades y la gravedad de las condiciones médicas. Tanto los pacientes como los médicos necesitan un cierto nivel de confianza en los resultados de los medidores de glucosa. Como con cualquier dispositivo médico, estos medidores de glucosa tienen limitaciones. La fiabilidad de los resultados puede verse afectada por los efectos ambientales. Los operadores pueden influir inadvertidamente los resultados del medidor. La condición del paciente, la medicación, y otros factores metabólicos también pueden afectar a la calidad de los resultados. Estas variables pre analíticas deben tenerse en cuenta al interpretar los resultados de la glucosa en sangre. La variable pre analítica es cualquier factor que puede afectar la confiabilidad de un resultado que ocurre antes de analizar la muestra. La precisión de los medidores de glucosa se evalúa por comparación con un método en el uso de rutina en el laboratorio clínico. La determinación de la precisión de un método de laboratorio establece medidores de exactitud comparativa pero no precisión de referencia a un estándar reconocido. Los medidores de glucosa analizan toda la sangre. El establecimiento de la precisión de los medidores de glucosa es difícil porque la glucosa es inestable en la sangre entera, y las muestras puede ser necesario transportarlas a un laboratorio para la comparación con los métodos de laboratorio.¹⁷

²¹ (Lorca, M. 2010). Manual de toma de muestras. *Campus laboratorio*. Pags21-23.

Los retrasos en el transporte pueden dar lugar a sesgos entre los medidores de glucosa y métodos de laboratorio debido a la glucólisis¹²

Por otra parte, dependiendo de la situación clínica del paciente, puede necesitar ser analizado por un medidor de glucosa, incluyendo capilar, arterial, venosa y especímenes particularmente en pacientes hospitalizados con una variedad de tipos de muestras. La sangre arterial tiene niveles más altos de glucosa en comparación con la sangre venosa debido a la sangre arterial se está entregando a los tejidos donde se absorbe la glucosa como fuente de energía. En el estado de ayuno, los niveles de glucosa arteriales son sólo 5 mg / dl (0,27 mmol / litro) más alto que capilar y 10 mg / dl (0,55 mmol / litro) mayor que las concentraciones de sangre venosa. Los medidores de glucosa ahora han encontrado una amplia gama de aplicaciones en la medicina, tanto para fines de diagnóstico en la identificación de la hipoglucemia y la hiperglucemia en la sala de emergencia y en el consultorio médico, para la gestión del control estricto de la glucemia, también en unidades de cuidados intensivos, así como la auto monitorización de la glucemia en el hogar²⁰

La precisión clínica del instrumento depende también de cómo se utilizará la información obtenida: detección, diagnóstico, y gestión. Un sesgo positivo significativo de > 10% se ha visto en más de una tercera parte de los resultados de glucosa a partir de tres nuevos medidores de glucosa de plasma calibrados como lo son (Abbott Precisión Xceed, Bayer Ascensia Contour y Roche Accu-Chek Aviva). Estos estudios han demostrado tanto la precisión clínica de la glucosa y han llegado a la conclusión de que los medidores son suficientemente confiables para la toma de decisiones clínicas²⁹

2. METODOLOGÍA

Se coloca al animal en decúbito lateral, se hace sujeción mecánica de su boca utilizando un cordón formando un bozal, se le pide la colaboración a una segunda persona para que sujete al animal gentilmente de la cabeza y del tronco, luego la persona encargada desinfecta el área de la vena cefálica con alcohol y procede a coleccionar una muestra de 2 ml de sangre completa aproximadamente. Esta muestra será servida vaciando el contenido de la jeringa en cada uno de los tres tubos (tapa lila, tapa roja y tapa amarilla) y una gota de sangre completa que inmediatamente será puesta en la tira reactiva del glucómetro ACCU-CHEK Perfoma Nano® que es la muestra inicial. Posteriormente (5 minutos después) los tubos previamente mencionados serán centrifugados por 3 minutos a 2.400 rpm, en el laboratorio clínico de la clínica de pequeños animales de La Universidad de La Salle; esta centrifuga realizará la separación de células y del líquido para obtener plasma, suero (tubo tapa roja) y suero (tubo tapa amarilla), respectivamente. Se procurará llevar el mismo tiempo de procesamiento para cada una de las muestras. Una vez centrifugadas se recolectará el plasma, el suero del tubo tapa roja y el suero del tubo tapa amarilla con un tubo de microhematocrito y se insertará una gota de cada muestra en una tira reactiva por separado. A estas muestras se les determinará la concentración de glucosa, utilizando el mismo equipo de glucometría portátil. Los datos obtenidos de la sangre completa, plasma y suero de cada paciente serán correlacionados e ingresados en una tabla.

El análisis estadístico del diseño experimental es observacional Completamente al Azar, donde se va a recolectar una muestra y esta se fraccionará en 3 tratamientos y la variable de cada una, va a ser el material biológico que se evalué cada una de las muestras.

Donde se hará también estadística descriptiva basada en promedio, desviación estándar, error estándar y límite de confianza al 95 %, también se empleará, el modelo ANOVA de una vía completamente al azar, previa verificación de la prueba de normalidad y de homocedasticidad y si las cumple se realizará la prueba no planeada de promedios de tukey, además se utilizará un análisis de correlación simple entre los resultados de glicemia obtenidos para determinar la asociación estadística. Todo se trabajará con un margen de confiabilidad del 5% ($P < 0.05$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 RESULTADOS

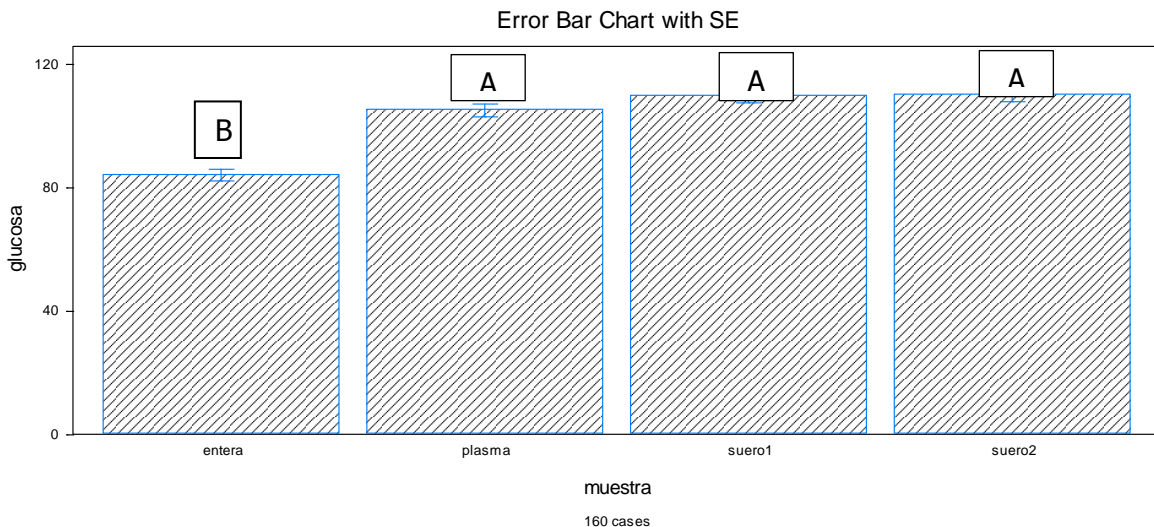
La glucemia obtenida de la sangre completa presento diferencias significativas comparativamente a la glucemia obtenida en suero tapa roja y suero tapa amarilla y plasma. ($P < 0.05$).

Tabla 1. Análisis estadístico de los datos brutos de los valores de glucemia

Título de columna	Sangre entera (mg/dL)	Plasma (mg/dL)	Suero (tubo tapa roja) (mg/dL)	Suero (tubo tapa amarilla) (mg/dL)
Media	84.250	105.15	109.90	110.38
Desviación estándar	11.957	13.740	13.828	14.740
Error estándar	1.8905	2.1725	2.1864	2.3306
Coeficiente de variación	14.192	13.067	12.583	13.354
Mediana	82.500	105.00	110.50	112.00
Límite de confianza superior al 95%	88.074	109.54	114.32	115.09
Límite de confianza inferior al 95%	80.426	100.76	105.48	105.66
Tamaño de la muestra	40	40	40	40
Mínimo	60.000	80.000	80.000	79.000
Máximo	144.00	163.00	158.00	162.00
Prueba de normalidad del valor P	< 0.0005			

Tabla 2. Análisis estadístico comparaciones por parejas

Muestra	Valor	Homogeneidad
Entera	84.250	B
Plasma	105.15	A
Suero 1	109.90	A
Suero 2	110.38	A



Como se puede observar en la tabla y en el diagrama las muestras de plasma, suero 1 y suero 2, tienen estadísticamente la misma media solo poseen diferencias numéricas por variaciones entre las muestras pero no en la medición de los tratamientos; la sangre entera es menor al valor de medición de las demás muestras por lo que se puede analizar que el equipo portátil de glucometría lee la sangre entera con un porcentaje menor de glucosa que con las demás muestras. Lo que quiere decir que son si estadísticamente significativas.

La media de glicemia (mg/dl) en la sangre entera con respecto a las muestras procesadas en laboratorio tuvo una variación entre 84 y 110 mg/dl que fue el resultado promedio de las muestras de laboratorio, lo que muestra una diferencia 26 mg/dl en resultado de las mediciones, en la desviación estándar es similar en ambos sueros y en plasma pero varía con respecto al resultado de sangre entera, ya que se encuentra en un menor valor. Lo que indica que la muestra de sangre entera si es estadísticamente significativa comparada con las muestras de plasma y suero; a su vez, la muestra de plasma comparada con las muestras de sueros no son estadísticamente significativas.

Las medias de glicemia por método de medición presentaron diferencias altamente significativas ($F=$; $p<0,0005$).

El coeficiente de variación, como se puede observar en la tabla 1.

- El 14% para la glucosa entera
- El 13% para la glucosa en plasma
- El 12% para el suero tapa roja
- El 13% para el suero tapa amarilla

Los resultados nos muestran que las mediciones fueron homogéneas y adecuadas en la toma de las muestras.

El error estándar nos muestra que las mediciones fueron similares en plasma y en los dos sueros ya que son casi iguales en sus resultados, estos varían comparados a los valores de sangre entera.

Tabla 3. Análisis estadístico de la diferencia neta

Título de columna	Entera / Plasma (mg/dL)	Entera/Suero2 (mg/dL)	Plasma/Suero2 (mg/dL)
Diferencia de la Media	-20,9	-26,1	-5,225
Desviación estándar de la diferencia entre medias	-1,7	-2,7	-0,9
Coefficiente de variación	-45,8	-74,3	-28,4
Mediana	-22,5	-29,5	-7
Límite de confianza inferior al 95%	-20,3	-25,24	-4,9
Límite de confianza superior al 95%	-21,4	-27,0	-5,5
Tamaño de la muestra	40	40	40
Mínimo	-20	-19	1
Máximo	-19	-18	1
Prueba de normalidad del valor P	<0.0005		

Correlaciones

Tabla 4. Correlación

	Entera	Plasma	Suero 1 (Rojo)	Suero 2 (amarilla)
Entera	1			
Plasma	0,80900433	1		
Suero 1	0,74423364	0,94094634	1	
Suero 2 (amarilla)	0,72515308	0,93429298	0,968829967	1

Los resultados que arroja la tabla de correlación entre la sangre entera y plasma son del 0,809 y 0,90, con variación de los datos entre estos dos valores, la correlación entre sangre entera y sueros son del 0,72 y el 0,74 y la correlación entre plasma y ambos sueros fueron entre el 0,94 y 0,96.

4. DISCUSIÓN

En el presente estudio encontramos que los niveles de glucosa en sangre son diferentes a los encontrados en plasma y suero. Según Tonyushkina et. al 2009 reporta que la sangre completa posee eritrocitos y demás células, lo que hace que los métodos de análisis de glucosa en sangre, como los glucómetros portátiles dependan de la dilución de la glucosa en la misma sangre, ya que esta, tiene un valor cuantitativo sobre la muestra del paciente al mezclarse con el volumen fijo de los reactivos. La sangre entera tiene un volumen fijo de agua que es menor al que se encuentra en plasma y suero, esta es una razón de las diferencias al comparar ambos tipos de muestras.

Según el trabajo de Teixeira et.al 2008 reporta que el agua es un factor importante dentro de la sangre ya que la glucosa se equilibra en la porción acuosa de la misma, dicha concentración de agua en plasma y suero difiere de la concentración en la parte celular de la sangre, debido a que los eritrocitos contienen membranas de lípidos y altos niveles de hemoglobina, por lo que estos son un factor excluyente de agua²⁹. Por lo tanto el plasma y el suero tienen mayor contenido de agua y más alta concentración de glucosa en aproximadamente un 11% - 12% a comparación a la sangre entera²⁹ como se puede observar en los resultados anteriores.

El presente trabajo obtuvo resultados que si son estadísticamente significativos entre los valores de glucemia en sangre entera comparada con los valores de glucemia en plasma y sueros, según Quirce Izquierdo et. al 2012 la concentración en glucosa en sangre entera puede ser menor comparada con la concentración de glucosa en plasma y suero debido a que a pesar de que en el presente estudio no se correlacionó el valor del hematocrito de cada canino, este valor, tiene trascendencia para los valores de glucemia en los dispositivos que utilizan sangre y plasma como muestra, ya que el efecto fisicoquímico de los filtros de barrera de las tiras reactivas, al aumentar el hematocrito, se transfiere menos plasma, sangre o suero a la zona de reacción, con lo que el volumen de reacción es menor, por lo que ofrece una glucemia inferior a la correspondiente a una proporción de células y plasma normal. En el caso opuesto de un hematocrito bajo provoca que una cantidad mayor de plasma pase a la zona de reacción, con lo que la glucemia aparente aumenta. Este efecto es importante es importante para el diagnóstico adecuado de la glucemia. Además en el estudio reportado por²⁶ la viscosidad aumentada de la sangre puede dificultar la impregnación completa de las tiras reactivas, de esta forma se modifica de manera sustancial los valores aparentes de glucemia.

Según Garrido et. al. 2002 hace referencia al eritrocito maduro que carece de orgánulos subcelulares a diferencia de otras células presentes en la sangre por lo tanto necesita la glucosa para mantener sus necesidades metabólicas durante los 4 meses de vida media celular.

Por lo dicho anteriormente se necesita el proceso de centrifugación para que la glucosa salga del glóbulo rojo, en el presente estudio se utilizó la centrifugadora convencional SERO- FUGE II CENTRIFUGE marca CLAY ADAMAS® para la separación de solutos de sus solventes. Esta serófuga está diseñada para la centrifugación de tubos y viales pequeños, se utilizó la velocidad de 2400 rpm durante 3 minutos. El valor de la glucosa según el estudio de Gomes Rioja et.al. 2002 pudo ser más alto en las muestras de plasma y suero debido a una hemólisis tipo I de las muestras de plasma y suero que no fue perceptible a simple vista, a pesar que de las muestras se hubiesen realizado de acuerdo a las recomendaciones del Laboratorio de

Diatest. Según Garrido et al. 2002 en la hemólisis in vivo sólo aparecen en plasma los componentes de alto peso molecular (hemoglobina o LDH). En la hemólisis in vitro el contenido intraeritrocitario íntegro se diluye en el plasma de la muestra e interfiere en el método de glucosa oxidasa (GO) mediante la inhibición por competición con el cromógeno por el peróxido de hidrógeno, en la segunda reacción asociada a la peroxidasa ²⁶

Además de esto en el presente estudio se utilizó el glucómetro ACCU CHECK Perfonan Nano® de laboratorios Roche se clasifica como un biosensor enzimático, o sensor biológico (biosensor), este dispositivo se basa en el reconocimiento de un analito en particular, mediante la utilización de un compuesto biológicamente activo también llamado bioreceptor (enzima, tejido, célula o ácido nucleico), el cual se inmoviliza sobre la superficie de un dispositivo denominado transductor que permite medir la alteración producida por el bioreceptor y convertirla en una señal eléctrica ¹³ Según los siguientes estudios (19, 18, 5,14, 28,17) los resultados indican que diferentes medidores comerciales comparados entre si y las tiras reactivas ensayadas son muy precisos en la determinación de las concentraciones de glucosa en sangre en el perro, sin embargo, al ser comparado Accu Check con otros equipos, dio los más altos coeficientes en términos de precisión, reproducibilidad de los resultados y de correlación como tal, lo que nos indica que es de gran valor clínico, el uso de este dispositivos para el diagnóstico veterinario.

En este estudio se prefirió tomar la muestra de glucosa procedente de la vena cefálica (sangre venosa), ya que según Jhonson et. al 2009 la concentración de glucosa postprandial en sangre capilar es mayor en un 20 a 25 % (20 a 70 mg/dl) comparada a los valores de glucosa en sangre venosa ¹⁷. El trabajo de Lara et.al 2004 reporta que la sangre arterial tiene niveles más altos de glucosa en comparación con la sangre venosa debido a la sangre arterial se está entregando a los tejidos donde se absorbe la glucosa como fuente de energía. En el estado de ayuno, los niveles de glucosa arteriales son sólo 5 mg / dl (0,27 mmol / litro) más alto que capilar y 10 mg / dl (0,55 mmol / litro) mayor que las concentraciones de sangre venosa ²⁰, por estas razones basadas en los dos trabajos anteriores se decidió que la sangre debería ser tomada de sangre venosa.

Además de esto en el presente trabajo se tuvo en cuenta la utilización de alcohol como técnica antiséptica para la piel para ser utilizado previamente a la extracción de sangre. En el estudio realizado por Lara et. al 2004, comparo los métodos de antisepsia en piel más adecuados para utilizar, previos a la toma de la muestra de glucemia con un glucómetro digital, donde se encontró que el alcohol junto con el agua y el jabón, no tienen una diferencia significativa, mientras que el alcohol con la clorhexidina tiene una diferencia significativa ya que la clorhexidina tarda más de 30 segundos para evaporarse en piel, lo que puede ocasionar una dilución de la gota de sangre al permanecer en crestas y valles de la misma, mientras que el alcohol tarda menos de 30 segundos en evaporarse y sus residuos no alteran de forma significativa los valores de glucosa, con relación a las muestras control provenientes de la técnica antiséptica de agua y jabón que según el estudio no generaban ninguna variación, sobre los niveles de glucosa en sangre.

5. IMPACTO E INDICADORES

- La muestra más fiable para medir la glucosa es en sangre entera, ya que al ser medida con dispositivos portátiles medidores de glucosa están diseñados para este tipo de muestra por lo que no se recomienda al utilizar estos dispositivos medir glucosa en plasma o suero ya que pueden variar significativamente los valores de glucosa y esto afectaría el diagnóstico veterinario.
- Adoptar sistemas objetivos y estandarizados para la detección de las muestras inadecuadas en la fase pre analítica, analítica y post post analítica; para de esta manera disminuir las inferencias y errores que se puedan presentar.
- Cada laboratorio debería tener sus propios intervalos de referencia para medir valores de glucosa utilizando un glucómetro portátil ya que dichos valores pueden variar según el laboratorio fabricante del glucómetro debido a la linealidad y el tipo de biosensor de cada uno de estos.
- Este estudio recomienda realizar una comparación de los valores de glucemia valorados por un glucómetro portátil versus un equipo de química seca como lo puede ser el VITROS DTCS, y de esta manera se puede dar mayor exactitud de la variabilidad de los valores de glucemia en las diferentes submuestras.
- En este estudio se recomienda que los factores analíticos que afecten la calidad de una muestra de sangre son evitables en la mayoría de los casos, y que por ende se deben tener en cuenta antes durante y después de la muestra, ya que pueden influenciar el valor del resultado.

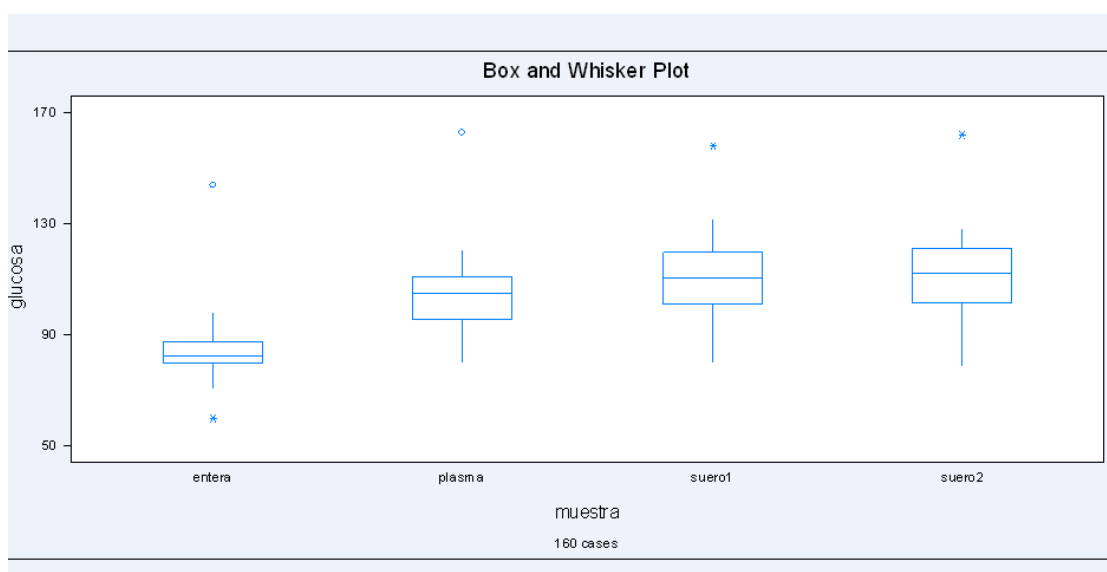
ANEXOS

Anexo 1.

Diagrama de Cajas y Bigotes

Es un gráfico, basado en cuartiles, mediante el cual se visualiza un conjunto de datos que está compuesto por un rectángulo, la "caja", y dos brazos, los "bigotes".

Diagrama 1. Cajas y Bigotes



La gráfica anterior se puede observar la mediana de los valores de glucemia de sangre entera es de 80, el rango inter cuartilico inferior es menor al 25% y el superior es mayor al 75% lo que quiere decir que la distribución de los datos en esta muestra estuvo dada por un rango mayor de números de alto valor numérico, que por números de bajo valor numérico.

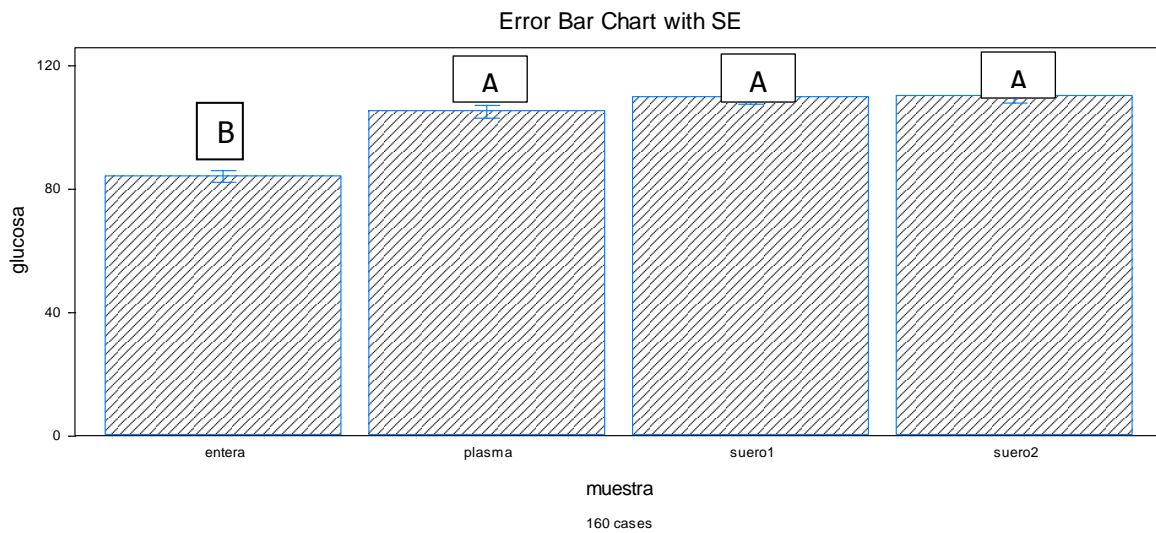
En la segunda muestra correspondiente al plasma la mediana es de 100, el rango inter cuartilico inferior es mayor al 75% comparado con el rango superior que es mejor al 25%, lo quiere decir que esta muestra fue predominante en los datos de mayor valor numérico. Para finalizar en las muestras pertenecientes al suero número 1 y número 2 la mediana aproximada es de 110 y el rango inter cuartilico superior e inferior fue casi el mismo, lo que quiere decir es que hubo igual proporción de datos de bajo y alto valor numérico.

Anexo 2.

Prueba de Tukey

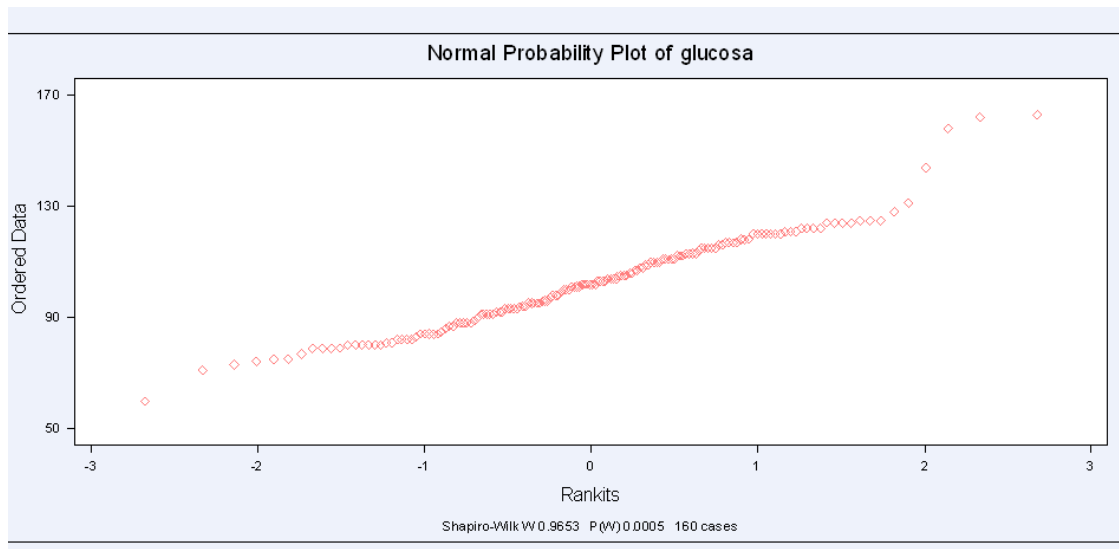
Tabla 1.5 Análisis estadístico comparaciones por parejas

Muestra	Valor	Homogeneidad
Entera	84.250	B
Plasma	105.15	A
Suero 1	109.90	A
Suero 2	110.38	A



Anexo 3.

Prueba de Shapiro



El F calculado es de 32.9 y la P calculada es de 0.000 comparada contra 0.005, como se observa en la gráfica es menor que la P comparada lo que demuestra que hay diferencias entre las medidas y hay distribución normal de los datos en esta prueba.

Anexo 4.

Prueba de Bartlett

Son homocedasticas ya que las diferencias en los promedios son debidas a los tratamientos y no a la variación de los tratamientos, la medición de los datos estuvo correcta ya que se controlaron todas las variables y la única diferencia que hay es la que dio el glucómetro portátil.

REFERENCIAS

1. Amstutz.H.E. (2000). *El manual Merck de veterinaria. 5ta edición*. Barcelona-España : Océano grupo editorial S.A.
2. Bergenstal R.M. (2008). Evaluating the accuracy of modern glucose meters. *Insulin*, 5–14.
3. Bondi, A. A. (1989). *Nutricion Animal*. España: Acribia.
4. Burgos, L. c. (2010). *Medicion y comparacion de la glucosa en muestras de suero y plasma, en ñandues (Rhea americana) sometidos a distintas condiciones de tempertura*. Bogota: Universidad de La Salle.
5. Crossley, J. (2009). Test rápido de determinación de glicemias (tiras reactivas):validación por métodos de laboratorio. *Hospitales Veterinarios*, 1, 10-14.
6. Cunningham, J., & Klein, B. (2009). *Fisiologia Veterinaria*. España: Elsevier.
7. Davila Esqueda, M., & Silva Ruiz, R. (2000). Comparación de las determinaciones de glucosa en sangre por química seca y química húmeda: su influencia en la toma de decisiones terapeuticas. *Redylac*, 75-78.
8. Escobar, D. (2010). *Pruebas de laboratorio en la emergencia II*. . Guayaquil, Ecuador: Proceedings of the 2º Congreso ECVECCS Emergencia y Cuidados Críticos Veterinarios.
9. Garcia , J., & Maside, C. (2009). *Catalogo de productos* . Portugal: BD Diagnostics, Preanalytical Systems.
10. Garrido Perretia, A. (2002). *Genetica molecular de la deficiencia eritrocitaria humana en piruvato quinasa*. Madrid: Universidad Complutense.
11. Gomes Rioja, R., & Alvarez Funes, V. (2009). Hemolisis en las muestras para diagnostico. *Revista del Laboratorio Clinico*, 10-30.
12. Hardy, R. (1988). *Diabetes Mellitus en el perro y el gato*. Minnesota: Universidad de Minnesota.
13. Hernandez Martinez, P. (2013). *Aplicacion de tecnicas electroquimicas en sistemas clinicos y piroquimicos*. Hidalgo - Mexico: Universidad autonoma de Hidalgo.
14. Holgin, D. (2009). Correlacion de los niveles de glicemia con diversas patologias en caninos (Canis Familiaris) cachorros y geriaticos presentados a consulta en la clinica de pequenos animales de la Universidad de Tolima. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 2(2), 45-47.

15. Hrubec. (2002). Plasma versus serum: Specific differences in biochemical analyte values. *Journal of avian medicine and surgery*, 101-105.
16. Jardon, S., & Mondragon, R. (2007). Alteraciones en el hemograma y analitos bioquimicos selectos en perros diabeticos: estudio retrospectivo en 40 perros . *Redalyc*, 55-62.
17. Jhonson, B. (2009). Comparasion of a human portable blood glucose monitor , a veterinary portable blood glucose monitor and an automated chemistry analyzer for measurind canine blood glucose concentration. *Pathobiology Publications and other Works*, 235(11), 1309-1313.
18. Joseph, R., & Graves, T. (2008). Evaluation of two reagent strips and three reflectance meters for rapid determination of blood glucose concentrations. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 170-174.
19. Lara, H., & Oliveiro, J. (2004). *Variacion entre los valores de glucemia obtenidos con glucometro digital, en base a la tecnica de antisepsia realizada en piel, previo a la toma de la muestra*. Guatemala: Universidad Francisco Marroquin.
20. Lara, H., & Oliveiro, J. (2004). *Variacion entre los valores de glucemia obtenidos con glucometro portatil digital, en base a la tecnica de antisepsia realizada en piel, previo a la toma de la muestra*. Guatemala: Universidad Francisco Marroquin.
21. Lorca, M. (2010). Manual de toma de muestras. *Campvs laboratorio*, 21-23.
22. Nelson, R. (1988). Effect of dietary insoluble fiber on control of glicemia in dogs with naturally acquired Diabetes mellitus. *Vet Med Assoc*, 212- 380-386.
23. Nelson, R. C. (2005). *Medicina interna de animales pequeños. 2da edición*. . Buenos Aires – Argentina: Intermédica.
24. Peña Garcia, N. (2003). *Biosensores amperometricos compositos basados en peroxidasa. Aplicacion a la determinacion de analitos de interes en alimentos mediante electrodos bioenzimaticos y multienzimaticos*. Madrid: Universidad Complutense .
25. Perez Fernandez, R. (2010). *Farmacologia Veterinaria*. Chile: Universidad de Concepcion.
26. Quirce Izquierdo , F., & Cantillo Fatela, D. (2012). Deteccion de interferencias y otros errores en la medicion de la glucemia en glucometros portatiles. *Sociedad española de bioquimica clinica y patologia molecular*, 1-13.
27. Rebar, A. (1998). *Interpretacion del hemograma canino y felino*. (Nestle Purina pet care company, Intérprete) Argentina, Argentina.
28. Teixeira, A. d. (2008). Glicemia em cães (Canis familiaris) com glucômetro digital portátil e teste laboratorial convencional. *Jornal Brasileiro de Ciência Animal*, 25-34.

29. Tonyushkina, K. (2009). Glucose Meters: A Review of Technical Challenges to Obtaining Accurate Results. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 971-980.