

**Universidad Nacional  
Facultad de Ciencias de la Salud  
Escuela de Medicina Veterinaria**

**Determinación de los valores referenciales del tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial activada y fibrinógeno en caninos (*Canis familiaris*) del Valle Central de Costa Rica.**

**Modalidad: Proyecto de Graduación**

**Trabajo Final de Graduación para optar por el Grado Académico Licenciatura en Medicina Veterinaria**

**Fabiola Quesada Díaz**

**Campus Presbítero Benjamín Núñez  
2012**

**Determinación de los valores referenciales del tiempo de protrombina, tiempo tromboplastina parcial activada y fibrinógeno en caninos (*Canis familiaris*) del Valle Central de Costa Rica.**

**COMITÉ ASESOR**

Decano: M.Sc. María Antonieta Corrales      Firma: \_\_\_\_\_

Directora: Dra. Laura Castro      Firma: \_\_\_\_\_

Tutora: Dra. Ana Meneses      Firma: \_\_\_\_\_

Lectora: Dra. Laura Bouza      Firma: \_\_\_\_\_

Lector: Dr. José Solano      Firma: \_\_\_\_\_

Fecha:

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo final de graduación primero a Dios (Brahman, el cuál es esa energía universal que nos mueve día a día para tratar de alcanzar la perfección).

A mi madre y hermana por todo su amor y paciencia, quienes siempre han estado ahí para apoyarme y las cuales me han ayudado ha superarme todos los días de mi vida.

## AGRADECIMIENTOS

A Dios por regalarme cada día de mi vida y la cuál disfruto con toda mi alma.

A mi tutora Ana Meneses y lectores Laura Bouza y José Solano, por su comprensión y paciencia a lo largo de toda la realización del proyecto, ya que sin su colaboración no hubiera sido posible este trabajo.

A todos quienes de alguna manera me ayudaron para que esto fuera posible desde el apoyo emocional hasta con la realización del mismo.

Al Dr. Eduardo Bitter, por su confianza y cariño en estos años y por enseñarme a valorar tantas cosas de nuestra profesión y de la vida.

A mis amigas del alma Laura, Cinthia, Jessica así como a otros compañeros a los cuales les guardo mucho cariño, por todas las cosas compartidas a lo largo de toda la carrera, de la cual extraño esos días de estudiante.

Simplemente muchísimas gracias y bendiciones siempre a todos!

## RESUMEN

Actualmente en Costa Rica, así como a nivel mundial, la tenencia de perros ha crecido, y por consiguiente la preocupación por la salud de los mismos. El presente estudio aporta información tanto en el área médica de los pacientes caninos, como a nivel laboratorial, brindándonos datos referenciales de variables hemostáticas, como tiempo de tromboplastina parcial activada, tiempo de protrombina y del fibrinógeno. El muestreo constó de un primer grupo de 100 caninos, de los cuales eran 48 machos y 52 hembras, con edades entre 1 a 10 años, todos clínicamente sanos, procedentes de las provincias de Heredia, San José y Alajuela. Y un segundo grupo de 35 caninos con trombocitopenia, de los cuales 22 eran machos y 13 hembras, con edades entre 2 a 13 años. A todos los animales se les extrajo una muestra de sangre de la vena cefálica en un tubo de citrato de sodio para realizar las pruebas de coagulación y fibrinógeno. Los parámetros se determinaron por medio de métodos semi automáticos, con la utilización de los reactivos HemoStat® de la casa comercial Human. Los valores obtenidos mediante estas pruebas, demostraron que la población analizada presentó una distribución normal, y un comportamiento tan estable que permitió alcanzar como mínimo un intervalo de confianza del 95 % y un error aceptable del 5%. Lo cual permitió establecer rangos de referencia confiables. Los tiempos de coagulación definidos permitirán diagnosticar enfermedades donde se pueda ver afectada la hemostasia, además de que deben ser un referente obligatorio a nivel médico para la preparación prequirúrgica de cirugías mayores u otros procedimientos quirúrgicos menores. Además provee a los médicos veterinarios, estudiantes y otros profesionales datos más certeros, que reflejan la condición fisiológica normal de los animales en condiciones propias de manejo y ambiente.

## **ABSTRACT**

Currently in Costa Rica and around the world, there has been a growing tendency to adopt dogs as house pets, consequently there has been an increase in the concern for their health. This written report provides information in the medical area of the canine patients and also in the laboratory area, such as reference data concerning the haemostatic variables like activated partial thromboplastin time, prothrombin time as well as fibrinogen. The sample collection was carried out in two groups of canines, the first group consisting of 100 canines and the second group consisting of 35 canines. In the first group, the age group ranged between 1 to 10 years old, with 48 males and 52 females, these canines were clinically healthy and proceeded from the provinces of Heredia, San José and Alajuela. In the second group (n = 35) the age ranged between the 2 and 13 years old with 22 thrombocytopenic males and 13 thrombocytopenic females. A blood sample was taken from each animal, regardless of the group, from the cephalic vein into a sodium citrate tube in order to do the coagulation and fibrinogen tests. The parameters were determined with semi-automatic methods using the Hemo-Stat® reagents from Human commercial company. The results obtained from these tests showed that the tested and analyzed canine groups presented a normal distribution and such a stable behavior that it allowed to reach a minimum confidence interval of 95%, with an acceptable mistake of 5%. The reference ranges obtained can be considered reliable. The coagulation times not only help us to diagnose haemostatic diseases, and should be taken into account when performing the pre-surgical preparations for mayor surgery or other small scale surgical procedures. It also provides for veterinarians, students or other professionals more accurate data that reflects

the normal physiological condition of the animals in their own handling and environmental conditions.

<b>ÍNDICE DE CONTENIDOS</b>	<b>Página</b>
<b>DEDICATORIA</b> .....	i
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	ii
<b>RESUMEN</b> .....	iii
<b>ABSTRACT</b> .....	iv
<b>INDICE DE CONTENIDOS</b> .....	v
<b>INDICE DE CUADROS</b> .....	vii
<b>INDICE DE FIGURAS</b> .....	viii
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	ix
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
1.1. <b>Antecedentes</b> .....	1
1.2. <b>Justificación</b> .....	<u>4</u>
1.3. <b>Objetivos</b> .....	<u>7</u>
1.3.1. <i>Objetivo general</i> .....	<u>7</u>
1.3.2. <i>Objetivos específicos</i> .....	<u>7</u>
<b>2. MATERIALES Y METODOS</b> .....	<b><u>8</u></b>
2.1. <b>Tamaño de la muestra</b> .....	<u>8</u>
2.2. <b>Recolección de la muestra</b> .....	<u>9</u>
2.3. <b>Análisis sanguíneo y metodología analítica</b> .....	<u>11</u>

2.4. Periodo de estudio.....	11
<b>3. RESULTADOS</b> .....	<b><u>12</u></b>
3.1. Análisis sanguíneos.....	12
3.2 Valores hemostáticos de pacientes con trombocitopenia.....	14
<b>4. DISCUSION</b> .....	<b><u>17</u></b>
<b>5. CONCLUSIONES</b> .....	20
<b>6. RECOMENDACIONES</b> .....	21
<b>7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b><u>22</u></b>
<b>8. ANEXOS</b> .....	<b><u>25</u></b>
8.1 Anexo 1: Cascada de coagulación actual.....	25
8.2 Anexo 2: Factores de coagulación.....	26
8.3 Anexo 3: Aspectos que se evaluaron en el examen clínico a los animales clínicamente sanos y los que cursaban con trombocitopenia.....	27
8.4 Anexo 4: Valores de los 35 pacientes con trombocitopenia.....	28
8.5 Anexo 5: Histograma de TP.....	29
8.6 Anexo 6: Histograma de TTPA.....	30
8.7 Anexo 7: Histograma de fibrinógeno.....	31
8.8 Anexo 8: Valores hemostáticos según diferentes autores.....	32
8.9 Anexo 9: Condiciones que pueden propiciar CID.....	33

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1:</b> Estadística descriptiva de las variables hemostáticas de los caninos clínicamente sanos.....	13
<b>Cuadro 2:</b> Rangos referenciales de las variables hemostáticas de caninos clínicamente sanos.....	13
<b>Cuadro 3:</b> Estadística descriptiva de las variables hemostáticas de los caninos con trombocitopenia.....	14
<b>Cuadro 5:</b> Aspectos que se evaluarán en el examen clínico a los animales clínicamente sanos y los que cursaban con trombocitopenia.....	25
<b>Cuadro 6:</b> Valores de los 35 pacientes con trombocitopenia.....	26
<b>Cuadro 7:</b> Valores hemostáticos según diferentes autores.....	32
<b>Cuadro 8:</b> Condiciones que pueden fomentar CI.....	33

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Distribución numérica de los perros con sus respectivos valores de TP.....	14
<b>Figura 2:</b> Distribución numérica de los perros con sus respectivos valores de TTPA.....	15
<b>Figura 3:</b> Distribución numérica de los perros con sus respectivos valores de fibrinógeno.....	16
<b>Figura 4:</b> Cascada de coagulación actual.....	23
<b>Figura 5:</b> Histograma de TP. ....	29
<b>Figura 6:</b> Histograma de TTPA.....	30
<b>Figura 7:</b> Histograma del fibrinógeno.....	31

**LISTA DE ABREVIATURAS**

**CA 2+:** Calcio.

**CID:** Coagulación intravascular diseminada.

**EMV:** Escuela de Medicina Veterinaria.

**DI:** Decilitro.

**Mg:** Miligramos.

**MS:** Microsoft.

**PF:** Factor plaquetario.

**PT:** Tiempo de protrombina.

**TC:** Tiempo de coagulación.

**TF:** Factor tisular.

**TTPA:** Tiempo de tromboplastina parcial activada.

**UNA:** Universidad Nacional de Costa Rica.

## **INTRODUCCIÓN**

### **1.1. Antecedentes**

La medicina veterinaria se ha desarrollado a través de la historia paralela a la medicina humana; en la antigua Grecia, Roma y Egipto ambas especialidades tenían un lugar de preferencia en la sociedad, el cual se ha mantenido hasta hoy, por el papel primordial que juegan en la salud del hombre y de los animales (Montenegro y Guzmán, 2006).

Las valoraciones en la salud o los diagnósticos de las enfermedades hasta el siglo XIX se basaban principalmente en la historia clínica y examen físico del paciente, ya que existían pocas pruebas diagnósticas laboratoriales o tecnológicas. Con el avance de los años surgen nuevas herramientas médicas, que permiten entre otros aspectos brindar diagnósticos más certeros o valorar la respuesta a los tratamientos (Montenegro y Guzmán, 2006).

El siglo XX se caracterizó por el desarrollo de diversas ramas médicas entre ellas la hematología. La hematología se define como la ciencia que estudia el sistema hematopoyético, constituido por los elementos circulantes y formadores de la sangre y algunos componentes del plasma, actualmente es una de las especialidades más relevantes en el campo de la patología clínica (Voigt, 2000). La hematología a su vez comprende diferentes áreas de estudio entre ellas, la hemostasia y la coagulación (Voigt, 2000).

La hemostasia es el proceso bioquímico que previene y evita la pérdida de sangre cuando existe algún daño vascular (hemorragia) y a la vez, permite un adecuado flujo sanguíneo, manteniendo así al sistema vascular fluido y libre de obstrucciones. La hemostasia es considerada como un mecanismo de defensa, donde el adecuado equilibrio del proceso entre la activación e inhibición va a depender de la interacción de ciertos

factores como son las células endoteliales, plaquetas, activadores e inhibidores de la coagulación, así como otras células circulantes de la sangre (Leib y Monroe, 1997).

El sistema hemostático se compone de cuatro fases: la primera es denominada como hemostasia primaria, la cual es la interacción entre plaquetas y paredes de los vasos sanguíneos; la segunda es la hemostasia secundaria que consiste en la formación del tapón de fibrina, que se da mediante la cascada de coagulación (Anexo 1); la tercera fase es la fibrinólisis que es la lisis del coágulo o trombo a través de la activación del plasminógeno en plasmina; y por último los anticoagulantes naturales (Couto, 2007).

En el caso de la hemostasia secundaria o el proceso de coagulación, este se define como la formación del coágulo de fibrina, el cual requiere de una serie de factores de coagulación (Anexo 2) que se encuentran en el plasma en una forma inactiva y se activan mediante una secuencia de pasos, que se resume en tres vías: la intrínseca (lesión sobre un vaso sanguíneo) y la extrínseca (lesión sobre un tejido) que al final convergen en la vía común, completándose así el proceso que llamamos coagulación (Bush, 1999; Voigt, 2000).

La cascada de coagulación juega un papel muy importante dentro del organismo, lo cual permite una visión más integral y está íntimamente relacionada con el sistema de inflamación, donde los procesos pro-coagulación tienden a tener efectos pro-inflamatorios, así como los procesos anti-coagulación tienen efectos anti-inflamatorios teniendo así una relación recíproca (Hopper, 2005).

Para determinar defectos hemostáticos existen varias pruebas, como el tiempo de coagulación (TC) y de sangrado, sin embargo las anteriores no son muy sensibles, ni específicas de una determinada fase de la hemostasia. Siendo las pruebas más recomendadas las siguientes: el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA) que evalúa la eficiencia de los factores de coagulación de la vía intrínseca y de la vía común. El

cual se puede prolongar por la deficiencia de los factores VIII, IX, X, XI, XII, del fibrinógeno o el uso de anticoagulantes como la heparina. El tiempo de protrombina (TP), evalúa la vía extrínseca y la vía común, si éste se prolonga evidencia una deficiencia del factor VII, X, II o I. (Bush, 1999). Además, la cuantificación del fibrinógeno permite no solamente valorar la coagulación sino, también los procesos de la inflamación. Este es una proteína de fase aguda que migra hacia los espacios extravasculares para rodear o localizar cualquier proceso invasor indicándonos así procesos inflamatorios (Kamath y Lip, 2003). Los valores referenciales reportados van de 100-400 mg/dl (Sodikoff, 2002).

Otro componente para la evaluación de la hemostasis son las plaquetas, ya que una inadecuada cantidad o una alteración en su funcionamiento puede resultar en un excesivo sangrado (Trall, 2004). Su principal función es la prevención de la pérdida de sangre mediante varios mecanismos, entre ellos el mantenimiento de la continuidad e integridad del endotelio vascular, especialmente de los capilares; reparando cualquier daño que se produzca en el endotelio; y activando y acelerando la coagulación sanguínea (Bush, 1999).

Los trastornos hemostáticos son procesos de difícil abordaje, sin embargo al contar con pruebas de laboratorio específicas como el TP, TTPA el diagnóstico se facilita, así mismo permiten una valoración más completa de la patología.

## **1.2. Justificación**

La importancia de las pruebas de laboratorio radica en que ayudan al diagnóstico de las enfermedades, permiten valorar el estado de salud, orientar el pronóstico, controlar y evaluar la respuesta al tratamiento (Davidson et al., 2000).

La aplicación de pruebas hemostáticas se justifican en pacientes con hemorragia espontánea o prolongada, trastornos que se asocian habitualmente con alguna coagulopatía congénita como la afibrinogenemia, hipofibrinogenemia, disfibrinogenemia, hipo o distrombinemia, deficiencia de factores de coagulación y defectos en la función de las plaquetas y en el tromboembolismo (Nelson y Couto, 2000). También en pacientes con condiciones adquiridas como enfermedad hepática, deficiencia de vitamina K, trombocitopenias, trombosis, coagulación intravascular diseminada (CID) y fibrinólisis, neoplasia o misceláneos como el trauma, shock, problemas hepáticos, quemaduras, enfermedad del gusano del corazón, toxicidad por rodenticidas, entre otras (Dodds, 2005).

Así mismo, es esencial incluir las pruebas de laboratorio en el protocolo del preoperatorio para evaluar la tendencia al sangrado, especialmente si la intervención quirúrgica conlleva un elevado riesgo de pérdida de sangre o si el paciente presenta una historia clínica de sangrados, y para el control de pacientes que toman medicamentos anticoagulantes (Voigt, 2000; American Heart Association, 2008).

Los desórdenes hemorrágicos suelen presentarse en los animales, pero son más frecuentes en los perros. Las manifestaciones de las alteraciones hemostáticas primarias son diferentes de las secundarias, en las primeras los síntomas son típicos de una hemorragia superficial y en las secundarias son semejantes a los de hemorragias profundas, es decir se comportan clínicamente diferentes (Nelson y Couto, 2000).

Para evaluar la función hemostática en un paciente, se debe medir como mínimo: el tiempo de coagulación, tiempo de tromboplastina parcial activada, tiempo de protrombina,

conteo de plaquetas (Trall, 2004). Adicionalmente se pueden evaluar algunos factores independientemente como el factor VIII y el fibrinógeno. La importancia de la evaluación del fibrinógeno tiene dos particularidades, una es que permite dar seguimiento a los procesos en donde se ha detectado un tiempo de protrombina o un tiempo de tromboplastina parcial activada anormales, como son los problemas hepáticos, o para monitorear el tratamiento de una enfermedad adquirida como coagulación intravascular diseminada (American Heart Association, 2008). La otra particularidad radica en su papel en los procesos inflamatorios, el cual se incrementa en el comienzo de enfermedades inflamatorias y se mantiene elevado hasta que el proceso inflamatorio se resuelve (Willard et al., 1999). La inflamación, la supuración y la primera etapa de gestación (28-37 días en la perra) cursan con niveles plasmáticos elevados de fibrinógeno y de proteínas de fase aguda.

Las hepatopatías, las neoplasias, la cirugía mayor y la coagulación intravascular diseminada cursan con una disminución de dicho parámetro (Sodikoff, 2002).

La evaluación de la hemostasia no solamente juega un papel relevante en el campo clínico, sino también en el campo de la prevención, debido a que existen razas tales como los Poodles, Beagles, Spanieles, Alaskan Malamute, Gigante de los Pirineos con predisposiciones hereditarias a deficiencias de factores de coagulación (Davies y Shell, 2002).

La valoración clínica de un paciente cuando existen desórdenes hemostáticos, se debe tomar en cuenta la historia, para poder orientar el diagnóstico hacia una patología adquirida o congénita (Leib y Monroe, 1997; Willard, 2000).

Asimismo, es indispensable contar con valores referenciales para una correcta interpretación de los resultados, la recomendación es que cada laboratorio debe establecer su rango normal de acuerdo a la instrumentación y técnicas utilizadas. Para poder discernir entre lo normal y anormal se debe tener conocimiento de los valores normales, lo cual se

realiza mediante el muestreo de una población de animales saludables, donde estos animales no presentan aparentes enfermedades y exhiben un comportamiento considerado como normal para dicha especie (Tvedten, 1999; Trall, 2004; Human Gesellschaft fur Biochemica und Diagnostica mbH, 2008). Actualmente no se cuentan con valores referenciales de las pruebas de coagulación en animales en Costa Rica, de ahí la importancia de iniciar investigaciones en este campo. Considerando que las más específicas son el TP, TTPA y fibrinógeno, se ha desarrollado el presente trabajo en perros domésticos, por la relevancia que han adquirido en el país como mascotas en la población costarricense. Además, las pruebas anteriormente citadas no se han introducido en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Escuela de Medicina Veterinaria, (EMV) de la Universidad Nacional, (UNA).

### **1.3 Objetivos**

### *1.3.1. Objetivo General*

- Determinar los valores referenciales del tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial activada y fibrinógeno en caninos domésticos de la región central de Costa Rica.

### *1.3.2. Objetivos Específicos*

- Determinar los valores referenciales del tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial activada y fibrinógeno en una población definida de caninos clínicamente sanos.
- Analizar el comportamiento del tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial activada y fibrinógeno en pacientes con trastornos patológicos como trombocitopenia.
- Incorporar las técnicas en el Laboratorio de Análisis Clínicos, EMV-UNA, según las condiciones propias.

## **2. METODOLOGÍA: MATERIALES Y MÉTODOS**

## 2.1 Tamaño de la muestra

El proyecto se realizó con una población total de 135 caninos escogidos por el método de muestreo por conveniencia, considerando la accesibilidad de la información de los animales lo cual permitió la reducción de costos (Anderson et al., 2005). El tamaño de la muestra se calculó en función de la población objetivo, lo cual, permite un nivel de confianza de 95 % y un margen de error absoluto esperado de 1 % para cada variable a analizar. Se realizó el cálculo estadístico del tamaño de la muestra utilizando el programa Win Episcopo® 2.0 (Romero, 2009; Thrusfield et al., 2001).

Para obtener los valores referenciales se seleccionaron 100 animales clínicamente sanos. Para garantizar su idoneidad como candidatos se les realizó un examen físico completo en el cual se tomaron los parámetros clínicos detallados en el Anexo 3. Los animales debieron contar con los parámetros normales, y se realizó una anamnesis acerca del tipo de alimentación, plan de vacunación y desparasitaciones. Con esta etapa no se realizaron análisis, simplemente se obtuvo la información con el fin de tener una idea general del manejo de los caninos. La mayoría de los perros provenían principalmente de la región central de Costa Rica. Para obtener el número de individuos necesario, se ofreció realizar la evaluación de fibrinógeno, tiempo parcial de tromboplastina y tiempo de protrombina gratuitamente. Para ello se colocaron anuncios en clínicas veterinarias y en la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional.

Adicionalmente se confeccionó una hoja de registro donde se recopiló información referente a la identificación, procedencia, edad, sexo, raza, si están castrados o enteros, índice de masa corporal, y si realizan o no ejercicio (Anexo 3). Con el fin de establecer criterios para la selección no fueron incluidos animales que estuvieran bajo algún tratamiento médico, que padecieran de alguna enfermedad o hembras en estado de preñez.

El segundo grupo lo conformaron 35 pacientes con trombocitopenia (valores inferiores a 200.000/u). Dichos pacientes se seleccionaron de la consulta del Hospital de Especies Menores de la Escuela de Medicina Veterinaria, UNA y de tres clínicas privadas. A dichos animales se les recopiló la misma información de los pacientes clínicamente sanos (Anexo 3).

## **2.2 Recolección de la muestra**

Las muestras de sangre fueron tomadas mediante punción venosa de la vena cefálica, utilizando tubos de plástico con citrato de sodio al 3.2% (Human Gesellschaft fur Biochemica und Diagnostica mbH, 2008). Posteriormente, las muestras se colocaron a una temperatura de aproximadamente 4 °C para prolongar la viabilidad de las mismas (Meneses et al., 1993). El plasma se obtuvo mediante la centrifugación a 4000 revoluciones por cinco minutos y se conservaron a -20 grados centígrados durante un tiempo aproximado de dos semanas, con la finalidad de realizar el montaje cuando se tuvieron alrededor de 40 muestras, para un uso más racional de los reactivos (Human Gesellschaft fur Biochemica und Diagnostica mbH, 2008).

## **2.3 Análisis sanguíneos y metodologías analíticas.**

Se realizaron las pruebas de fibrinógeno, TP y TTPA en el plasma citrado. Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Análisis Clínicos, EMV-UNA. Los métodos que se utilizaron fueron semiautomáticos por medio del coagulómetro Humaclo Junior®, el cual es un fotómetro de un canal de alta sensibilidad, de la compañía HUMAN GMBH, Alemania.

El TP se midió después de añadir una fuente de factor tisular, en este caso tromboplastina y calcio. La recalcificación del plasma en presencia del factor tisular activa el factor X de la cascada de coagulación, trombina y por último un coágulo de fibrina. Se utilizaron los reactivos HemoStat TROMBOPLASTIN-SI® de la casa comercial Human, Wiesbaden, Alemania (Human Gesellschaft fur Biochemica und Diagnostica mbH, 2008).

La determinación del TTPA, se realizó añadiendo a la muestra de plasma, el reactivo que contiene un activador de plasma y fosfolípidos, que actúan como sustitutos de las plaquetas, después se recalcificó con cloruro de calcio y se contabilizó el tiempo de formación del coágulo. Se utilizaron los reactivos HemoStat aPTT-EL® de la casa comercial Human, Wiesbaden, Alemania (Human Gesellschaft fur Biochemica und Diagnostica mbH, 2008).

La determinación del fibrinógeno se realizó mediante el método de Clauss, donde una cantidad de trombina, en este caso bovina, se añadió a la muestra de plasma prediluida 1:10 en buffer imidazol, el tiempo de coagulación será inversamente proporcional a la concentración de fibrinógeno de la muestra. Se utilizaron los reactivos HemoStat FIBRINOGEN® de la casa comercial Human, Wiesbaden, Alemania (Human Gesellschaft fur Biochemica und Diagnostica mbH, 2008).

Todos los valores se corroboraron mediante la titulación de plasmas controles, de HemoStat PLASMA CONTROL® de la casa comercial Human, Wiesbaden, Alemania (Human Gesellschaft fur Biochemica und Diagnostica mbH, 2008).

#### **2.4. Análisis de datos**

Los datos obtenidos del TP, TTPA y fibrinógeno de los 100 animales sanos fueron registrados en el programa Excel® (MS Office 2007) para su debido análisis. Se realizó un análisis de tipo descriptivo, que incluyó la obtención del promedio, desviación estándar, varianza, el valor mínimo y máximo y la moda. Además, se realizaron histogramas y curvas de la distribución normal de cada variable y mediante el cálculo de la asimetría, curtosis y el coeficiente de variación se seleccionaron los datos, eliminando los de los extremos. Posteriormente, se estableció el rango de referencia a partir del promedio sumando o restando una desviación estándar con un intervalo de confianza al 95%. Por lo tanto, los datos inferiores o superiores al rango referencial serán considerados como individuos anormales.

Los valores de los caninos con trombocitopenia se analizaron individualmente y se realizaron los correspondientes histogramas de distribución. Se estableció como norma que los datos inferiores o superiores al 25% del rango referencial se considerarán como anormales.

## **2.5. Periodo de estudio**

El presente estudio se elaboró durante el periodo del mes de enero del 2009 hasta junio del 2011.

## **3. RESULTADOS**

### 3.1. Análisis sanguíneos

#### 3.1.1 Valores del Tiempo de protrombina, tiempo de protromplastina parcial activada y fibrinógeno.

Los valores estadísticos descriptivos (promedios, desviación estándar, varianza, valor mínimo-máximo y moda) de las diferentes variables hemostáticas obtenidas en perros clínicamente sanos se presentan en el cuadro 1.

**Cuadro 1. Estadística descriptiva de las variables hemostáticas de 100 caninos clínicamente sanos.**

	<b>Rango</b>					
	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Varianza</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Moda</b>
TP, segundos	7.60	0.79	0.62	6.30	10.00	7.20
TTPA, segundos	17.11	2.31	5.33	11.50	31.00	16.60
Fibrinógeno mg/dl	223.32	74.38	5576.42	103.00	486.00	238.00

#### 3.1.2 Rangos referenciales.

En el cuadro 2 se presentan los rangos referenciales establecidos en el presente estudio.

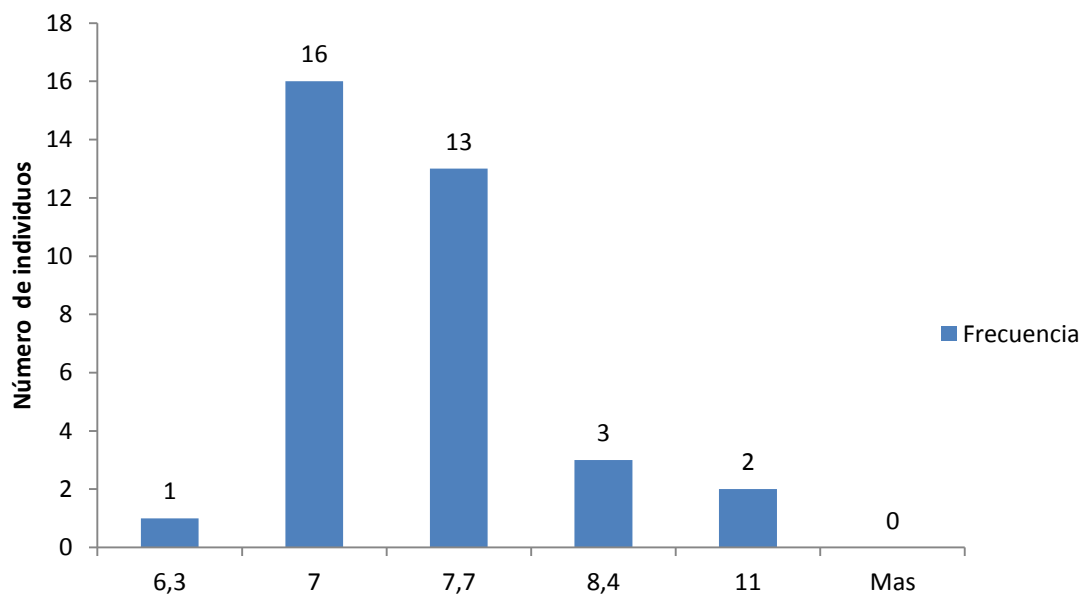
**Cuadro 2. Rangos referenciales de las variables hemostáticas de caninos clínicamente sanos.**

<b>Variable</b>	<b>Rango referencial</b>
Tiempo protrombina	7-8,5 segundos
Tiempo de tromboplastina parcial activada	15-19 segundos
Fibrinógeno	149-298 mg/dl

### **3.2 Hallazgos del comportamiento de los valores hemostáticos de pacientes con trombocitopenia.**

### 3.2.1 Comportamiento del tiempo de protrombina.

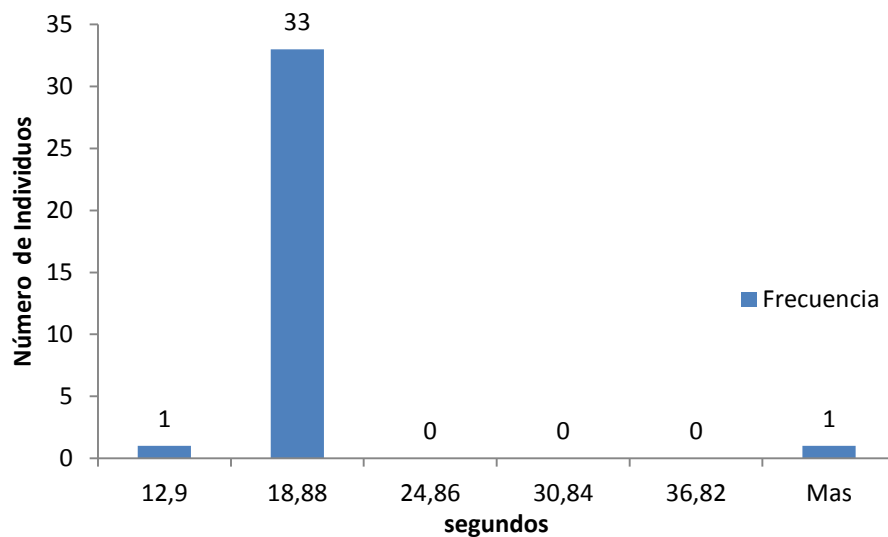
En los 35 pacientes estudiados con trombocitopenia, solamente dos individuos presentaron valores fuera del límite superior de referencia (7-8,5 segundos), pero no es significativo porque no supera el 25% o más de los valores referenciales establecidos. En el siguiente gráfico se muestran la distribución de los animales y datos obtenidos.



**Figura 1. Distribución numérica de los perros con sus respectivos valores de TP.**

### 3.2.2 Comportamiento del tiempo de trombolastina activada.

En el caso de la medición de TTPA, el 97% de los individuos se mantuvieron dentro de los valores referenciales (15-19 segundos). Solamente un individuo mostró un valor superior al 25% del rango referencial. En el siguiente gráfico se muestran la distribución de los animales y datos obtenidos.

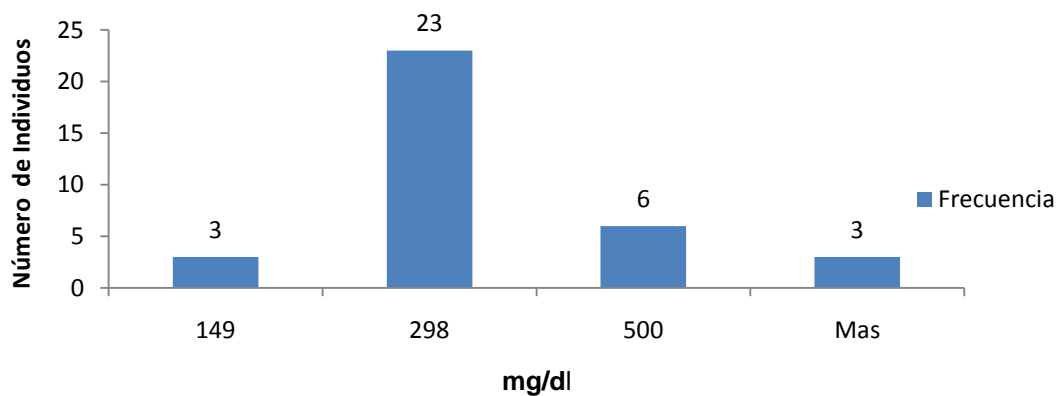


**Figura 2. Distribución numérica de los perros con sus respectivos valores de TTPA.**

### 3.2.3. Comportamiento del fibrinógeno.

En los pacientes con trombocitopenia a los cuales se les midió el fibrinógeno, en cinco de ellos se encontraron valores fuera del rango referencial (rango referencial 149-298

mg/dl), y con un incremento superior al 25%. En el siguiente gráfico se muestran la distribución de los animales y datos obtenidos.



**Figura 3. Distribución numérica de los perros con sus respectivos valores de fibrinógeno.**

#### **4. DISCUSIÓN**

Los rangos referenciales de TP, TTPA y fibrinógeno establecidos en esta investigación son de gran importancia en especial para los médicos veterinarios que utilizan el servicio

del Laboratorio de Análisis Clínicos EMV-UNA, como son los del Hospital de Especies de Compañía y Animales de Vida Silvestre EMV-UNA y de otras clínicas privadas del país.

Los valores de referencia fueron obtenidos con técnicas y condiciones implementadas por primera vez en el laboratorio, lo cual le permitirá a los usuarios realizar una correcta interpretación. Siendo los datos relevantes para otros clínicos del país, ya que son de caninos de nuestra región.

A la fecha, Costa Rica no se contaba con valores referenciales de las pruebas hematológicas analizadas, por ello, el trabajo es un aporte a dicha escasez de información, siendo una guía a los médicos veterinarios para realizar una adecuada interpretación, al evaluar los resultados de sus pacientes con problemas de sangrados. El estudio brinda rangos referenciales de confiabilidad, en el caso de TP (Anexo 4), TTPA (Anexo 5), ya que se demostró, por el comportamiento del promedio y la desviación estándar de cada variable, que la muestra tuvo una distribución normal. En el caso del fibrinógeno (Anexo 6) tiene una distribución independiente de las dos variables anteriormente citadas, pero con un comportamiento normal. El rango referencial se estableció con una desviación estándar de acuerdo con la teoría de la distribución de las muestras citadas por Farver (1997) y de esta forma se eliminaron los datos que no correspondían al comportamiento de la mayoría de la población. Los valores referenciales del presente estudio muestra cierta similitud con los datos que aporta la literatura (Anexo 7), a pesar de que no es recomendable la comparación de valores de referencia entre el presente estudio y otros, por la variabilidad el tamaño de la muestra, los métodos analíticos, personal técnico, calidad de reactivos y equipo, ya que tienen un efecto sobre los resultados, como lo ha demostrado Meneses et al. (1993) y Bush (1999).

Los métodos utilizados son de fácil manejo y rápida utilización, mostrando alta precisión y exactitud de acuerdo al programa de seguridad analítica (plasma control).

La aplicación del TP, TTPA y fibrinógeno a los caninos con trombocitopenia permitió validar las técnicas y el rango referencial. La mayoría de los animales presentaron los valores dentro del rango establecido, respondiendo a lo esperado dentro de la frecuencia de coagulopatías en la clínica veterinaria, debido a su difícil diagnóstico, ya que ningún estudio aislado evalúa todos los componentes hemostáticos (Meyer y Harvey, 2000). Los animales con el TP y TTPA prolongado sugieren el consumo incrementado de los factores o la falta de producción de algunos de ellos. Dicha situación se puede presentar en casos de toxicidad por rodenticidas (cumarínicos), insuficiencia hepática grave o CID.

Esta última puede ser una complicación de diversas patologías (Anexo 6). Así mismo, la enfermedad de von Willebrand y hemofilia pueden alterar los valores; sin embargo en estas dos últimas el conteo de las plaquetas se pueden encontrar normal.

La prolongación del TP se asocia a deficiencia de los factores VII, X, II y I y el TTPA se asocia a deficiencia de los factores VIII, IX, X, XI, XII.

La condición de trombocitopenia no implica necesariamente alteración en las fases de la coagulación, la producción de plaquetas en la médula ósea está mediada por la trombopoyetina, la cual es producto del riñón, y esta a su vez por el número circulante. La etiología de la trombocitopenia está relacionada con una disminución en la producción o supresión de la médula ósea, como es el caso entre otros, de la mieloptisis resultante de una neoplasia medular, sensibilidad a drogas o radiaciones. Otra causa es la destrucción acelerada, lo cual es lo más frecuente en perros, a menudo ocurre como resultado de un proceso inmunomediado (Meyer y Harvey, 2000), o enfermedades infecciosas que pueden

generar la CID, enfermedad renal y también por el secuestro plaquetario debido a un hiperesplenismo (Nelson y Couto 2000; Harvey, 2006).

El aumento del fibrinógeno en los cinco casos analizados no corresponde con los animales con TP y TTPA prolongados. Por lo que la alteración se asocia a un posible daño tisular o inflamatorio (Bush, 1999).

Los valores inferiores del TP, TTPA y fibrinógeno fueron pocos y de magnitud no menor al 25%, por lo tanto no tienen implicaciones clínicas. Cuando el fibrinógeno baja se puede asociar con coagulopatias o fallo hepático, entre otras.

## **5. CONCLUSIONES**

- Se estableció el rango referencial del TP, TTPA y fibrinógeno de una población de caninos domésticos de la región central de Costa Rica.
- Los rangos referenciales obtenidos son estadísticamente válidos, ya que la población analizada mostró un comportamiento normal en cada una de las variables, que permitió alcanzar como mínimo un intervalo de confianza del 95 por ciento y un error aceptable del 5%, debido a que los parámetros estudiados presentaron una tendencia normal.
- Los pacientes con trombocitopenia en su gran mayoría contaba con el TP y TTPA normales, demostrando que los trastornos de coagulación pueden tener diferente origen dentro del proceso de la hemostasia.
- El laboratorio de Análisis Clínicos EMV-UNA, debe incorporar dentro de su servicio diagnóstico el análisis de TP, TTPA y fibrinógeno.

## **6. RECOMENDACIONES**

1. El perfil de coagulación para pacientes pre quirúrgicos debe incluir el cómputo de plaquetas, TC, TP, TTPA de manera ideal, asimismo, en cualquier paciente del cual se sospeche de patologías que afecten la hemostasia.
2. Ampliar el presente estudio en la valoración del fibrinógeno en trastornos de inflamación y evolución pos quirúrgica.
3. Valorar TP, TTPA como otra herramienta diagnóstica en anomalías de la coagulación, estados hipercoagulables, CID, enfermedad hepática, deficiencia de vitamina K, mordedura de serpiente así como alteraciones hereditarias.

## **5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- American Heart Association. 2008. The international society on thrombosis and haemostasis. [en línea]. Clinical coagulation laboratory <http://www.americanheart.org> (Consulta: 5 agosto. 2008).
- Anderson, D.R., D.J. Swenney & T.A. Williams. 2005. Estadística para administración y economía. 6a ed. Thompson. México.
- Bush, B.M. 1999. Interpretación de los análisis de laboratorio para clínicos de pequeños animales. Ediciones Harcourt S.A. Madrid, España.
- Couto, G. 2007. Clinical approach to the bleeding patient [en línea]. In 56 Congresso Nazionale Multisala SCIVAC. Jun. 1-3. Rimini, Italia. <http://www.ivis.org> (Consulta: 30 mayo. 2008).
- Davidson, M., R., Else & J., Lumsden. 2000. Manual de patología clínica en pequeños animales. Editorial Harcourt S.A. Madrid, España.
- Davies, Ch., & L., Shell 2002. Common small animal diagnosis an algorithmic approach. W.B Saunders Company. Pennsylvania. USA. .
- Dodds, W. 2005. Bleeding disorders in animals [en línea] In: 20 World Congress Proceedings of the World Small animal Veterinary association Mexico city, Mexico. <http://www.ivis.org> (Consulta: 30 mayo. 2008).
- Farver, T. 1997. Concepts of normality in clinical biochemistry. Pp. 1-19. In Kaneco, J (ed)., J. Harvey (ed) & M. Bruss. Clinical biochemistry of domestic animals. 5ta Ed. Academic press, EE.UU.
- Harvey, J. 2006. Differential Diagnoses of Bleeding Disorders [en línea]. In: NAVC Proceedings 2006, North American Veterinary Conference (Eds). Publisher:

- NAVC ([www.tnavc.org](http://www.tnavc.org)). Internet Publisher: International Veterinary Information Service, Ithaca NY. <http://www.ivis.org> (Consulta: 30 abril. 2010).
- Hopper, K. 2005. The modern coagulation cascade and coagulation abnormalities associated with sepsis [en línea]. *In* 50 Congresso Nazionale Multisala SCIVAC. Rimini, Italia. <http://www.ivis.org> (Consulta: 30 mayo. 2008).
- Human Gesellschaft fur Biochemica und Diagnostoca mbH. 2008. HemoStat Fibrinogen [en línea]: catálogo automatizado. Wiesbaden, Alemania. <http://www.human.de/data/gv/vr/co-fib.pdf> (consulta: 31 agosto. 2008).
- Kamath, S. & GY., Lip. 2003. Fibrinógeno: Bioquímica, Epidemiología y Determinantes [en línea]. Laboratory Medicine Coagulation Test Handbook. <http://www.labtestsonline.es/tests/CoagulationFactors.html?lnk=4> (Consulta: 23 de abril. 2009).
- Kirk R, B.S & F.R. 1995. Handbook of Veterinary Procedures & Emergency Treatment. 6a ed. W. B. Saunders Company, Philadelphia, USA.
- Lieb, S.M. & W.E. Monroe. 1997. Practical small animal internal medicine. 1ª ed. Ediciones W. B. Saunders Company. Philadelphia, USA.
- Meneses, A., J., Villalobos & E., Sancho. 1993. Manual de hematología y química clínica en Medicina Veterinaria. Editorial Fundación UNA. Heredia, Costa Rica.
- Meyer, D. J. & J. W. Harvey. 2000. El laboratorio en Medicina Veterinaria, Interpretación & Diagnóstico. 2da ed. Intermédica. Buenos Aires. Argentina.
- Montenegro, M. J. & C. Guzmán. 2006. Determinación de niveles de fibrinógeno en canes. [en línea]. Hospital Universitario de Veterinaria, U.A.G.R.M. Santa Cruz, Bolivia. <http://www.fc.v.uagrim.edu.bo/> (Consulta: 5 feb. 2009).

- Nelson, R.W. & C.G. Couto. 2000. Medicina interna de pequeños animales. 1ª ed. Ediciones Harcourt S.A, Madrid, España.
- Romero, J. 2009. Entrevista con el Doctor Juan José Romero. Epidemiólogo. Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de Costa Rica, Heredia, C.R. Abril. 09.
- Trall, M. 2004. Veterinary Haematology and Clinical Chemistry. Pages: 45, 187, 194. Editorial Lippincott Williams &Wilkins. Pennsylvania, USA.
- Thrusfield, M., C. Ortega, I. de Blas, J. Noordhuizen & K. Frankena. 2001. Win episcopo 2.0 : improved epidemiological software for veterinary medicine. Vet. Rec.
- Tvedten, H. 1999. General Laboratory Concepts. p: 2-4 *In* Willard, M., H. Tvedten & G. Turnwald. Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods. 3rd. ed. Saunders, U.S.A.
- Sodikoff, Ch., 2002. Pruebas diagnósticas y de laboratorio en pequeños animales. Una guía para el diagnóstico de laboratorio. 3<sup>rd</sup> ed. Harcourt, Madrid. España
- Voigt, G., 2000. Hematology techniques and concepts for veterinary technicians. 1ª ed. Editorial Iowa State University Press. Iowa. USA.
- Willard , M., H., Tvedten, & G., Turnwald, 1999. Small animal clinical diagnosis by laboratory methods. 3<sup>rd</sup> ed. W. B. Saunders Company, Philadelphia. USA.

## 6. ANEXOS

## Anexo 1.

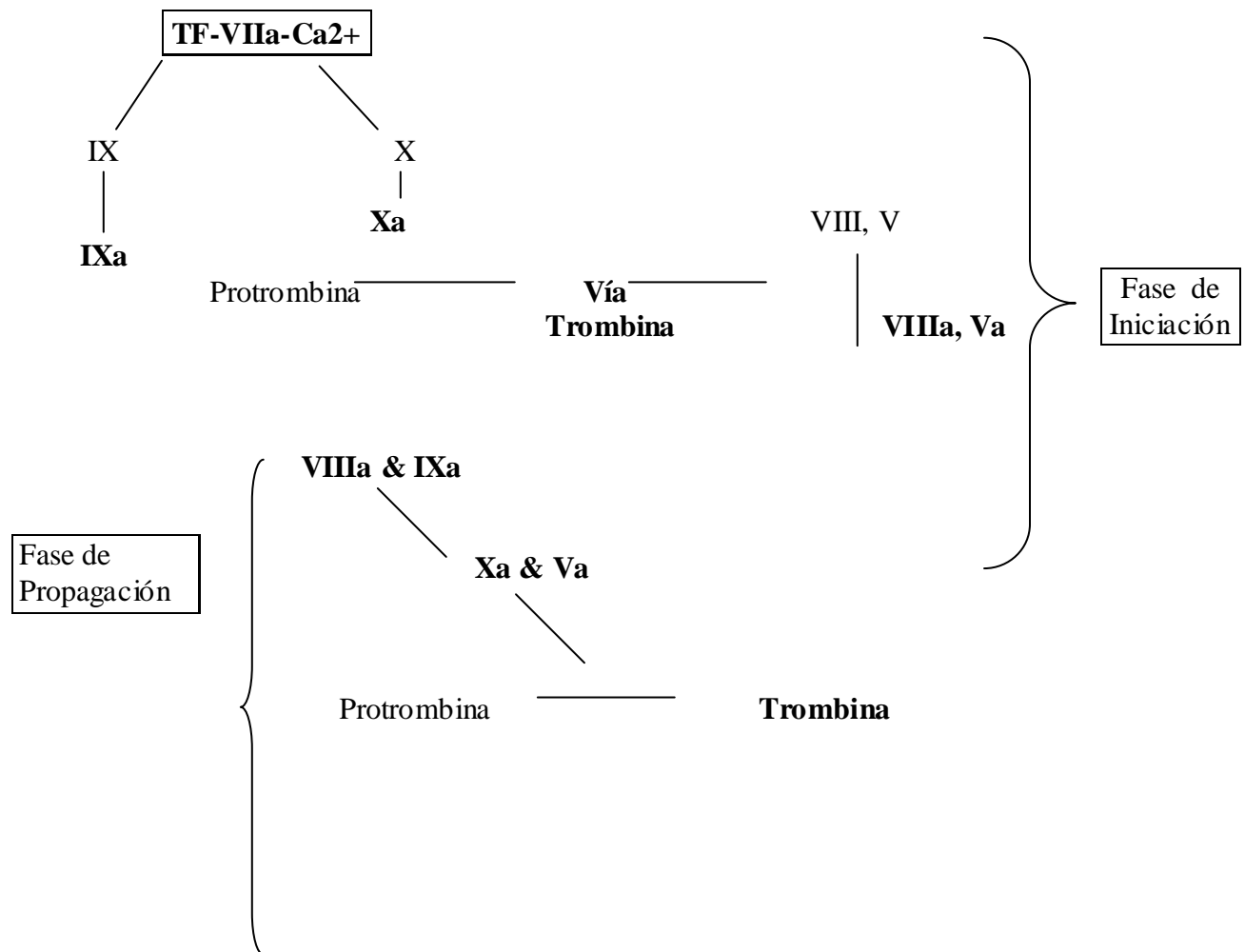


Figura 4. Cascada de coagulación actual (Couto, 2007).

**Anexo 2: Factores de coagulación (Voigt, 2000).**

<b>Factor</b>	<b>Nombre</b>	<b>Vía</b>
I	Fibrinógeno	Común
II	Protrombina	Común
III	Factor tisular	Extrínseca
IV	Calcio ionizado	Todas
V	Proacelerina	Común
VII	Proconvertina	Extrínseca
VIII	Factor antihemofílico	Intrínseca
IX	Factor Christmas	Intrínseca
X	Factor Stuart	Común
XI	Antecesor de tromboplastina plasmática	Intrínseca
XII	Factor Hageman	Intrínseca
XIII	Fibrinasa	Común
HMWK	Factor Fitzgerald	Intrínseca
PK	Factor Fletcher	Intrínseca
PF3	Factor plaquetario 3, fosfolípido de superficie.	Intrínseca/ común

**Anexo 3.****Cuadro 5. Aspectos que se evaluaron en el examen clínico a los animales clínicamente sanos y los que cursaban con trombocitopenia.**

**Identificación:** \_\_\_\_\_ **Sexo:** \_\_\_\_\_ **Edad:** \_\_\_\_\_ **Raza:** \_\_\_\_\_

**Firma de propietario:**

<b>Parámetros clínicos:</b>	
Hidratación	
Temperatura	
Frecuencia respiratoria	
Frecuencia cardíaca	
Pulso	
Examen musculoesquelético	
Condición corporal	
Estado del pelaje	
<b>Información adicional:</b>	
Dieta.	
Vacunaciones	
Desparasitaciones	
Ejercicio	
Observaciones:	

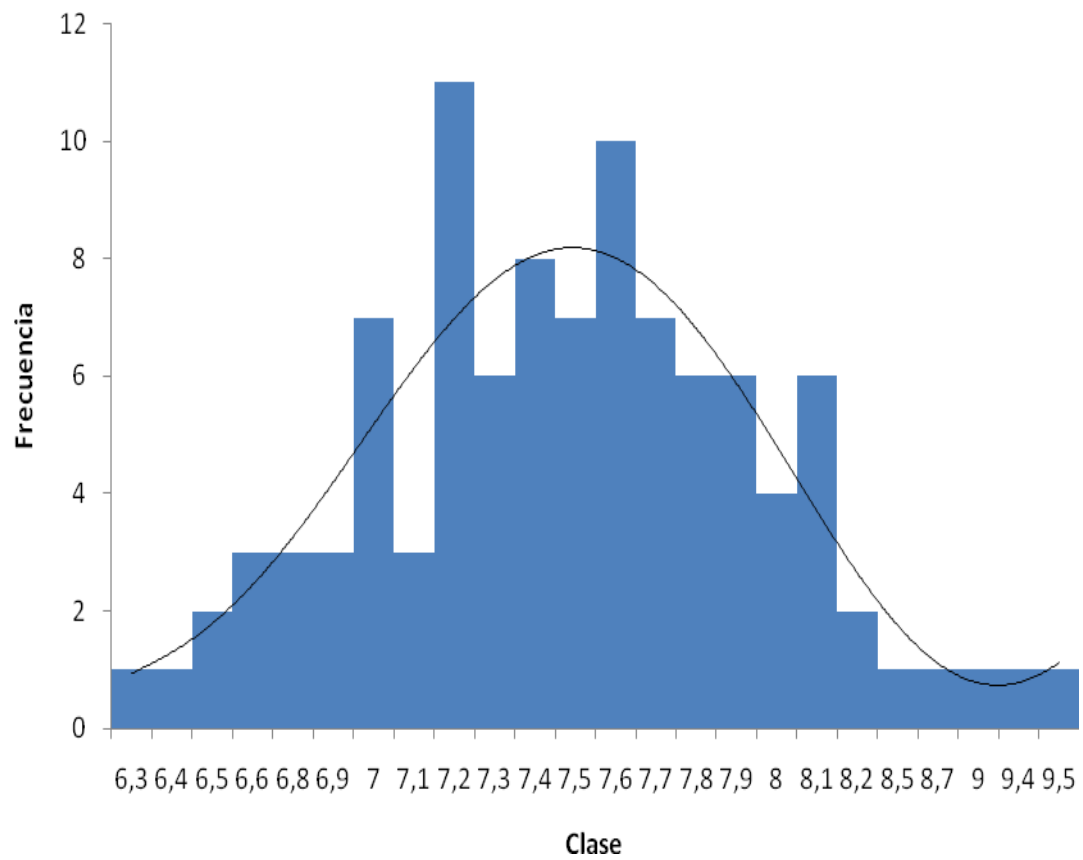
**Resultados:** Fib: \_\_\_\_\_ aPTT: \_\_\_\_\_ PT: \_\_\_\_\_

## Anexo 4.

Cuadro 6. Valores de los 35 pacientes con trombocitopenia.

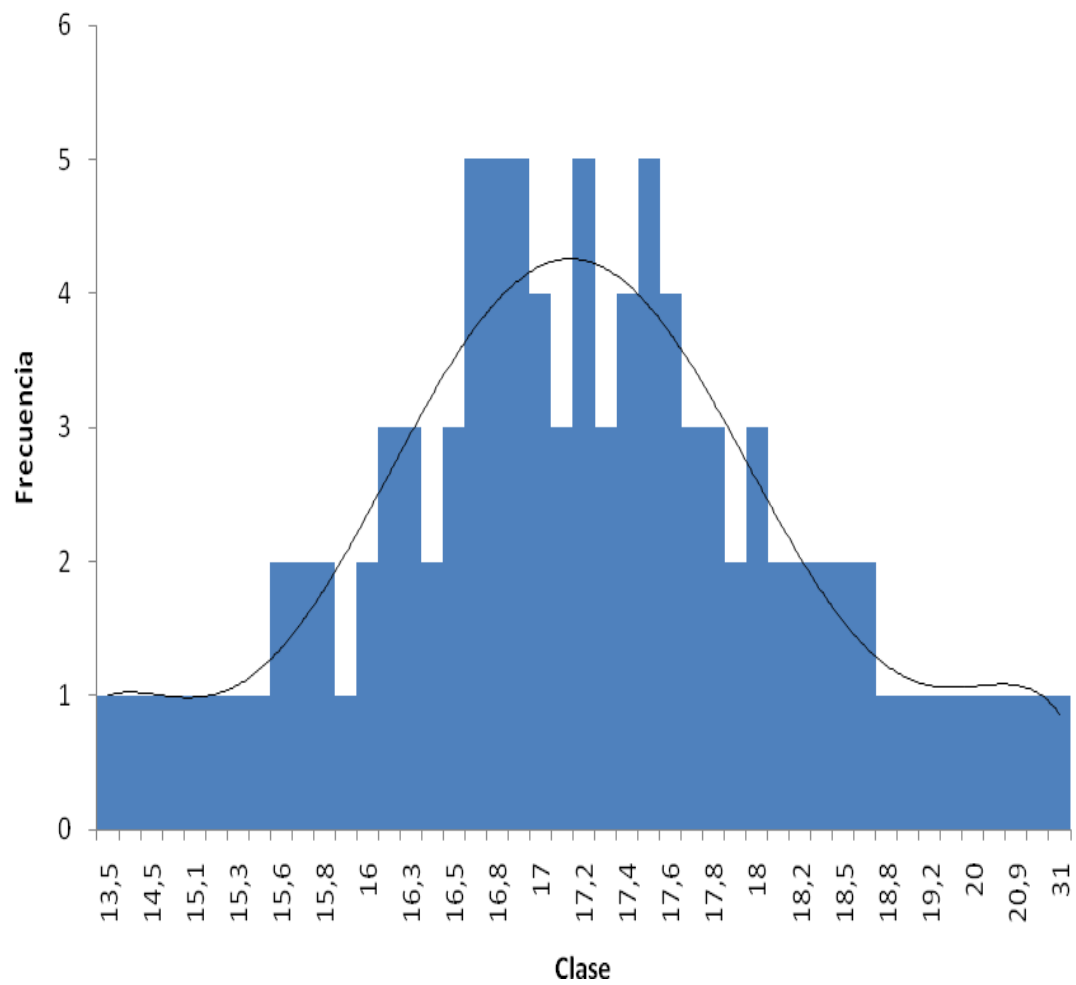
No Muestra	Edad (años)	Sexo	TP	TTPA	Fibrinógeno
1	11	M	6.4	17.2	742
2	5	M	6.6	13.6	227
3	3	M	7.1	14.4	130
4	10	M	6.8	13.1	160
5	3	H	7.6	14.4	195
6	13	M	7.6	15.2	449
7	8	M	7.5	17.6	237
8	4	M	8.1	15.1	915
9	11	M	7.1	13.4	237
10	3	H	7	13	9629
11	4	H	6.5	15.2	168
12	3	M	7.4	13.9	235
13	2	H	9.8	42.8	214
14	2	H	7.9	15.2	216
15	2	M	8	14.5	250
16	5	H	7.5	15.5	238
17	11	H	6.6	16.7	327
18	4	M	6.7	13.1	232
19	10	H	6.3	14.2	412
20	5	M	7.2	13.3	145
21	3	M	7.1	13.6	311
22	5	M	7,4	14.2	292
23	2	M	6.9	13.6	232
24	6	H	7	15	230
25	4	M	7	12.9	243
26	2	M	9.6	16.7	360
27	5	M	7	14.4	158
28	4	M	6.8	13.1	120
29	3	H	6,9	13.8	308
30	7	H	7.1	16.6	161
31	8	M	6.5	16.3	235
32	5	M	6,6	16.1	216
33	6	H	7,3	13.2	200
34	7	M	6.6	15.2	294
35	8	H	7.5	14.9	237

## Anexo 5.



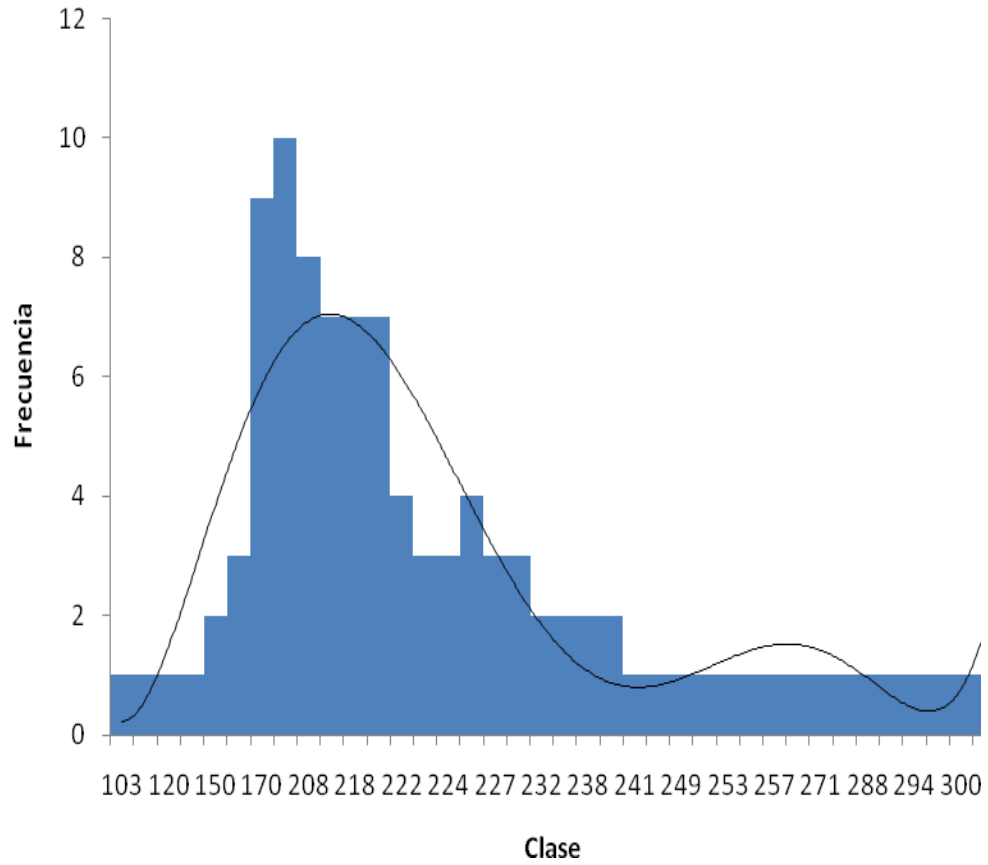
**Figura 5. Histograma de TP**

## Anexo 6.



**Figura 6. Histograma de TTPA.**

**Anexo 7.**



**Figura 7. Histograma de fibrinógeno.**

**Anexo 8.**

**Cuadro 7. Valores hemostáticos según diferentes autores.**

<b>Variable</b>	<b>Quesada, (2012).</b>	<b>Sodikoff, (2002).</b>	<b>Bush, (1999).</b>	<b>Trall, (2004).</b>	<b>Kirk, et al. (1995).</b>
Tiempo de protrombina (segundos)	7-8.5	5-9	7-10	6,4- 7,4	6-10
Tiempo de tromboplastina activada (segundos)	15-19	4-18	< 11	9-11	15-25
Fibrinógeno (mg/dl)	149-298	100-400	100-500	100-500	200-400

**Cuadro 8. Condiciones que pueden propiciar CID (Meyer y Harvey, 2000).**

---

Septicemia

Viremia (hepatitis infecciosa canina, herpes canino, moquillo canino, PIF)

Parásitos protozoarios y metazoarios

Lesión tisular marcada (golpe de calor, procedimientos quirúrgicos y traumatismo)

Hemólisis intravascular

Complicaciones obstétricas

Hemangiosarcomas y carcinomas diseminados

Choque traumático

Enfermedad hepática

Pancreatitis

Dilatación – vólvulo estomacal

Toxinas

---