

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de ciencias de la salud

Estimación de hematocrito en caballos por medio de sedimentación
en jeringas de 1 ml y 10 ml

Karen Gisele Burbano Flores

Escuela de medicina veterinaria

Trabajo de integración curricular presentado como requisito para la obtención
del título de Médico Veterinario

Quito, 01 de mayo de 2020

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de ciencias de la salud

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Estimación de hematocrito por medio de sedimentación en jeringas de 1 ml
y 10 ml en caballos

Karen Gisele Burbano Flores

Calificación: _____ / 10.

Nombre del profesor, Título académico Rommel Lenin Vinueza DMVZ, M. Sc.

Firma del profesor: _____

Quito, 01 de mayo de 2020

DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante:

Nombres y apellidos:

Karen Gisele Burbano Flores

Código:

00132094

Cédula de identidad:

1726200726

Lugar y fecha:

Quito, mayo de 2020

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

RESUMEN

En este trabajo se evalúa el uso de jeringas de 1 ml y 10 ml para la medición de hematocrito por medio de sedimentación de la sangre como un método que puede ser usado a campo. Debido a la propiedad de rápida separación de la sangre del caballo a comparación de otras especies, es posible utilizar la sedimentación para estimar el hematocrito. Se utilizó la prueba 2 varianzas del programa Mini Tab 18 para identificar si existe una diferencia significativa entre el uso de jeringas de 1ml y 10 ml. Se obtuvo que el uso de jeringas de 10 ml para la estimación de hematocrito por sedimentación tiene una efectividad del 93.33% a comparación del uso de jeringas de 1 ml que tiene un 66.67% de efectividad. Al usar jeringas de 10 ml, se puede realizar la lectura del hematocrito a los 55 minutos y se debe restar el valor de 10 para obtener el valor de hematocrito que se obtiene por centrifugación. A diferencia de las jeringas de 1 ml, en las cuales se debe realizar la lectura a los 80 minutos y se debe restar el valor de 12.

Palabras clave: caballos, hematocrito, campo, jeringa de 1ml, jeringa de 10 ml.

ABSTRACT

In this work the use of 1 ml and 10 ml syringes for the measurement of hematocrit by means of blood sedimentation is evaluated as a method that can be used in the field. Due to the rapid separation property of horse blood compared to other species, sedimentation can be used to estimate hematocrit. The 2 variances test of the Mini Tab 18 program was used to identify if there is a significant difference between the use of 1 ml and 10 ml syringes. It was obtained that the use of 10 ml syringes for the estimation of hematocrit by sedimentation has an effectiveness of 93.33% compared to the use of 1 ml syringes that have a 66.67% effectiveness. Using 10 ml syringes, the hematocrit reading can be performed after 55 minutes and the value of 10 must be subtracted to obtain the hematocrit value obtained by centrifugation. Unlike 1 ml syringes, in which the reading should be made after 80 minutes and the value of 12 should be subtracted.

Key words: horses, hematocrit, field, 1 ml syringe, 10 ml syringe.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	12
1.1 Contexto del estudio	12
1.2 Problema	13
1.3 Objetivos	14
2. DESARROLLO	15
2.1 Metodología	15
2.1.1 Toma de muestras sanguíneas	15
2.1.2 Centrifugación de las muestras	16
2.1.3 Procesamiento de muestras sanguíneas en jeringa.....	17
2.2 Resultados	18
2.2.1 Jeringa de 1 ml	19
2.2.2 Jeringa de 10 ml	19
2.2.3 Jeringa de 1 ml vs jeringa de 10 ml.....	22
2.3 Discusión.....	22
3. CONCLUSIONES	26
4. BIBLIOGRAFÍA	27
5. ANEXOS	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Estadísticos descriptivos y análisis de porcentaje para los valores de 8, 10 y 12 obtenidos en la jeringa de 1 ml.....	20
Tabla 2: Estadísticos descriptivos y análisis de porcentaje para los valores de 8, 10 y 12 obtenidos en la jeringa de 10 ml.....	21

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 5 minutos.	30
Gráfico 2 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 10 minutos.	30
Gráfico 3 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 15 minutos.	31
Gráfico 4 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 20 minutos.	31
Gráfico 5 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 25 minutos.	32
Gráfico 6 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 30 minutos.	32
Gráfico 7 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 35 minutos.	33

Gráfico 8 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 40 minutos.	33
Gráfico 9 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 45 minutos.	34
Gráfico 10 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 50 minutos.	34
Gráfico 11 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 55 minutos.	35
Gráfico 12 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 60 minutos.	35
Gráfico 13 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 65 minutos.	36
Gráfico 14 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 70 minutos.	36

Gráfico 15 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 75 minutos. 37

Gráfico 16 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 80 minutos. 37

Anexo 1 : Jeringa de 10 ml y 1 ml con células adheridas a su pared. 38

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Contexto del estudio

El propósito de determinar el volumen celular (PCV por sus siglas en inglés) o hematocrito es para determinar el porcentaje de eritrocitos que circulan en la sangre periférica al momento de la colección de la muestra sanguínea. Es una de las pruebas sanguíneas más comunes y simples de hacer de forma rápida, económica y de alta precisión; además proporciona información valiosa acerca de los otros componentes sanguíneos. Los términos “volumen celular” y “hematocrito” generalmente son usados de manera intercambiable, sin embargo existe una pequeña diferencia. Hematocrito es “separar la sangre”, por lo que estamos usando técnicas de hematocrito para determinar el volumen celular. El mecanismo detrás de este test es la ley de la gravedad: mientras más denso sea un objeto, más rápido caerá. El eritrocito maduro tiene una mayor densidad que el resto de componentes sanguíneos y cuando la sangre es colectada y se le permite reposar, los eritrocitos se concentrarán al fondo de una columna de sangre (Voigt y Swist, 2011).

Debido a que la tasa de esta separación es algo lenta, a excepción de los caballos, se usa una centrífuga para acelerar este proceso. El método de micro-hematocrito para determinar el PCV es el más común debido a su rapidez y precisión. Existen tubos capilares con anticoagulante (usualmente heparina) que se usan cuando la muestra sanguínea es tomada directamente del animal; y sin anticoagulante que se usan cuando la muestra ha sido colectada ya con anticoagulante (Voigt y Swist, 2011). El volumen celular normal de un caballo depende de varios factores como la raza, edad, altura en la que vive, entre otros factores, pero en términos generales el rango es de 31-50% en caballos adultos (Southwood, 2013).

Los valores de hematocrito pueden estar por encima del rango normal a lo cual se lo denomina como eritrocitosis y por el contrario, cuando se encuentra por debajo es característico de anemia. Un incremento en el hematocrito es usualmente un incremento relativo ya que no implica un aumento real de la masa celular de glóbulos rojos. Puede darse un incremento en el hematocrito por deshidratación, endotoxemia, o contracción esplénica asociada al ejercicio o excitación. Un incremento absoluto, es decir un incremento en la producción de eritrocitos, es raro en los caballos; excepto tal vez en aquellos que entrenan a altas altitudes. Un descenso en el hematocrito es característico de anemia. La anemia puede deberse a pérdida de eritrocitos, destrucción de eritrocitos o hemólisis, o debido a una producción inadecuada de la médula ósea de eritrocitos (Wilson, 2010).

1.2 Problema

El análisis de hematocrito es una herramienta que indica en parte el estado general del paciente y permite instaurar un tratamiento inicial y posteriormente sirve de referencia para ver si la condición del paciente ha mejorado o no. Por ejemplo, nos dice si el paciente se encuentra deshidratado a lo cual el veterinario puede actuar de inmediato e instaurar la fluido terapia (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013). Ya que se requiere de una centrífuga específicamente diseñada para producir la velocidad y fuerzas gravitacionales necesarias para separar los componentes de la sangre (Voigt y Swist, 2011); y que no todos los veterinarios disponen de este equipo, esta herramienta no está disponible y mucho más cuando se está a campo.

Se ha realizado un estudio previo en el 2004, en el cual se evaluó la estimación del hematocrito por medio de sedimentación de sangre en jeringas de 2, 5, 10 y 20 ml que previamente fueron heparinizadas o bañadas en citrato trisódico. En este estudio se encontró que no hubo diferencias significativas entre jeringas pero por razones prácticas,

el mejor método es usar jeringas de 5 ml heparinizadas. Además, se puede determinar si el hematocrito del animal se encuentra por debajo o encima de 45-50% después de 30-45 minutos por lo que el veterinario puede decidir si la fluido terapia es necesaria después de este tiempo. No obstante, el tiempo a esperar para realizar una correcta lectura es de 60 minutos (Nóra, Bakos, Gabór y Reiczigel, 2004).

Dicho esto, la pregunta de investigación es si la estimación de hematocrito por medio de sedimentación de sangre en jeringas de 1 ml y 10 ml es un método que permite una lectura con alta precisión. En base a esta pregunta se plantean las siguientes hipótesis:

- **Hipótesis nula:** La medición de hematocrito por sedimentación en jeringas de 1ml y 10 ml no es un método preciso.
- **Hipótesis alternativa:** La medición de hematocrito por sedimentación en jeringas de 1ml y 10 ml es un método preciso.

1.3 Objetivos

Objetivo general.

Establecer si la medición de hematocrito por sedimentación de la sangre en jeringas de 1 ml y 10 ml es un método válido

Objetivos específicos.

Evaluar si existe diferencia significativa entre las mediciones de hematocrito de las jeringas de 1ml y 10 ml. Además de evaluar si existe diferencia significativa entre las mediciones de hematocrito de las jeringas de 1 ml y 10 ml, y cuál es el tiempo óptimo para realizar la medición del hematocrito.

2. DESARROLLO

2.1 Metodología

Se realizaron mediciones de hematocrito en 45 caballos (aunque el objetivo inicialmente fue de 70 caballos lo cual se discute más adelante) a los cuales se les tomó muestras de sangre de acuerdo al protocolo instaurado por la universidad Virginia Tech para investigaciones el cual se describe en la parte de “Toma de muestras sanguíneas”. En este proyecto cada caballo fue su propio control, es decir, que se comparó los valores de hematocrito obtenidos por sedimentación con los obtenidos por centrifugación del mismo caballo.

Se tomó primero una muestra de sangre en tubos de tapa lila con EDTA y posteriormente muestras en jeringas de 1ml y 10 ml. Se han seleccionado únicamente jeringas de 1 ml y 10 ml debido a que el hematocrito es un valor dado en porcentaje, y con el fin de que este método sea rápido y no requiera de cálculos adicionales, se usaron estas jeringas que tienen equivalencias sencillas al 100%. Las muestras en tubos de tapa lila fueron almacenados en refrigeración por un periodo no mayor a 24 horas para su posterior procesamiento por medio de centrifugación durante 3 minutos a una fuerza de 15.000 g y 12.000 revoluciones por minuto, siendo este uno de los métodos aceptados y certificados para la medición de hematocrito (Wennecke, 2004; Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

2.1.1 Toma de muestras sanguíneas.

Según el protocolo para investigadores de la universidad Virginia Tech instaurada en 2017, la muestra sanguínea debe ser tomada de la vena yugular, se debe asegurar el uso de indumentaria adecuada para la protección de la persona que toma la muestra de sangre, se debe lavar las manos y/o cambiar de guantes entre animales, y disponer de un

contenedor de corto-punzantes y desechos. Los materiales utilizados fueron: agujas de calibre 18 por 1 ½ pulgadas, jeringas que en este proyecto serán de 1 ml y 10 ml, viales para colección de sangre que en este caso fueron tubos de tapa lila con EDTA, antiséptico que en este caso fue alcohol, gasas, y métodos de contención (Virginia Tech, 2017) como se detalla a continuación.

Se contuvo al animal con la ayuda de un palafrenero que manejó al caballo mientras una segunda persona tomaba la muestra de sangre. Se deslizó una gaza con alcohol para remover la suciedad superficial. Esto también ayudó a visualizar mejor la vena. Se ocluyó la vena yugular aplicando presión en el surco yugular de 5 a 7 cm debajo del lugar de veno-punción y se visualizó la vena elevada. Se rompió el sello de la jeringa tirando suavemente hacia atrás antes de usar. Después de haber eliminado el aire y con la aguja unida a la jeringa, con el bisel hacia arriba se insertó la aguja firme y suavemente a través de la piel hacia la vena en un ángulo de 20° y se aspiró la jeringa para confirmar la inserción y recoger la sangre. Una vez tomada la muestra sanguínea, se aplicó presión con una gaza por un minuto para asegurar una correcta hemostasia (Virginia Tech, 2017).

2.1.2 Centrifugación de las muestras.

El método de referencia recomendado por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (NCCLS) para determinar el hematocrito es la centrifugación. La muestra de sangre se colocó en un tubo capilar y se centrifugó para después medir la proporción entre el paquete celular y el plasma para luego expresarla como porcentaje. Los materiales usados fueron: muestra de sangre entera con anticoagulantes (EDTA), tubos capilares de vidrio con un diámetro estrecho (se usaron tubos capilares sin heparina de 75 mm de largo, O.D. de 1.40-1.60 mm y de volumen de 80 microlitros), material de sellado (que en este caso fue plastilina), una centrífuga de microhematocrito con una fuerza centrífuga

máxima relativa de 10-15000 x g, la cual debe ser alcanzada en 30 segundos, y el dispositivo de lectura. A continuación se detalla el procedimiento.

Los tubos de capilares se llenan por fuerzas capilares. Un mínimo de dos capilares es requerido para asegurar el balance en la centrífuga. Es importante que los tubos estén sellados por completo. Después de tres minutos de centrifugación (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013), a una fuerza de 15.000 g y 12.000 rpm, (Wennecke, 2004) el hematocrito puede ser medido mientras los tubos capilares sean mantenidos en una posición horizontal. A los eritrocitos empaquetados les sigue primero una pequeña capa turbia la cual consiste en la capa leucocitaria y posteriormente está una columna transparente de plasma. El hematocrito se estimó calculando la relación de la columna de eritrocitos empaquetados con la longitud total de la muestra en el tubo capilar usando un dispositivo de lectura gráfica. La medición se realizó dentro de los 10 primeros minutos para evitar la fusión de las capas (Wennecke, 2004).

2.1.3 Procesamiento de muestras sanguíneas en jeringas.

El procedimiento propuesto en este proyecto consiste en:

1. Llenar por completo la jeringa de 1 ml y 10 ml.
2. Después de haber tomado la muestra sanguínea, colocar la jeringa en posición vertical con la aguja en dirección hacia arriba.
3. Realizar observaciones cada 5 minutos hasta que las mediciones no tengan variabilidad en 3 mediciones seguidas, por ejemplo, que en las mediciones a los 45, 50 y 55 minutos los valores de hematocrito obtenidos no hayan cambiado; y así poder determinar el tiempo promedio en el que una muestra sanguínea se sedimenta tanto en las jeringas de 1 ml y 10 ml.

Posteriormente cada muestra fue comparada con el valor obtenido por centrifugación. Debido a que al comparar los valores de hematocrito obtenidos con las jeringas en los diferentes tiempos, se obtuvo que incluso después de ochenta minutos el valor obtenido por sedimentación en jeringas nunca igualó al valor obtenido por centrifugación, se procedió a realizar una sustracción. El objetivo de la sustracción es que mediante este cálculo matemático se pueda obtener el mismo valor de hematocrito que se consiguió por centrifugación. La sustracción se realizó entre el valor obtenido por sedimentación con el valor obtenido por centrifugación. Por ejemplo, el hematocrito obtenido del caballo X en el tiempo Y se resta del valor obtenido por centrifugación. Además se calcularon los estadísticos descriptivos (media, moda, desviación estándar, varianza y coeficiente de variación) para cada tiempo de cada jeringa.

En base al estadístico moda se analizó que valor es el que se presenta en mayor frecuencia para los diferentes tiempos; también se analizó en qué porcentaje de la población muestral se presentaron estos valores. Luego para demostrar que existe diferencia significativa entre la jeringa de 1 ml y la jeringa de 10 ml se usó la prueba 2 varianzas del programa Mini Tab 18. Además, se estableció cuál es el tiempo óptimo para realizar la medición del hematocrito, es decir, en que tiempo el valor del hematocrito obtenido por la sedimentación en jeringas se asemeja más al valor obtenido por centrifugación.

2.2 Resultados

De las sustracciones realizadas en todos los tiempos, es decir desde los 5 minutos hasta los 80 minutos, se obtuvieron valores entre 6 a 12 de diferencia. Con el estadístico de moda se obtuvo que el valor de diferencia más repetido para la jeringa de 1 ml fue 8 y para la jeringa de 10 ml fue 10. En ambas jeringas el valor de 12 también tuvo una alta frecuencia por lo que se decidió analizar estos tres valores (8, 10 y 12).

2.2.1 Jeringa de 1 ml.

En el 33.33% de los caballos no se presentaron los valores de 8, 10 y 12 en la substracción entre el valor obtenido por sedimentación en jeringas de 1 ml con el valor obtenido por centrifugación, es decir que para el 66.67% de la población muestral la medición del hematocrito por sedimentación en jeringas de 1 ml es válido. Al analizar qué valor entre 8, 10 y 12 es el que se presenta en mayor frecuencia para los diferentes tiempos se obtuvo que: el valor de 8 se presentó en un 20% a los 60 y 65 minutos, el valor de 10 se presentó en un 20% a los 80 minutos y el valor de 12 se presentó en un 22.22% a los 75 y 80 minutos. Al analizar a qué porcentaje de la población muestral corresponden estos valores se obtuvo que: el valor de 8 se presentó en el 24.44% de la población muestral, el valor de 10 se presentó en el 44.44% de la población muestral y el valor de 12 se presentó en el 73.33% de la población muestral. La desviación estándar, la varianza y el coeficiente de variación para cada tiempo se encuentran descritos en la Tabla 1.

2.2.2 Jeringa de 10 ml.

En el 6.67% de los caballos no se presentaron los valores de 8, 10 y 12 en la substracción entre el valor obtenido por sedimentación en jeringas de 1 ml con el valor obtenido por centrifugación, es decir que para el 93.33% de la población muestral la medición del hematocrito por sedimentación en jeringas de 10 ml es válido. Al analizar qué valor entre 8, 10 y 12 es el que se presenta en mayor frecuencia para los diferentes tiempos se obtuvo que: el valor de 8 se presentó en un 17.78% a los 70, 75 y 80 minutos, el valor de 10 se presentó en un 46.67% a los 80 minutos y el valor de 12 se presentó en un 40% a los 45 minutos. Al analizar a qué porcentaje de la población muestral corresponden estos valores se obtuvo que: el valor de 8 se presentó en un 24.44% de la población muestral, el valor de 10 se presentó en un 71.11% de la población muestral y el valor de 12 se presentó en

Tabla 1: Estadísticos descriptivos y análisis de porcentaje para los valores de 8, 10 y 12 obtenidos en la jeringa de 1 ml.

TIEMPO (minutos)	DESV. EST	VARIANZA	COEF. DE VAR	MODA	# de ocho	Porcentaje de 8	# de diez	Porcentaje de 10	# de doce	Porcentaje de 12
5	30.37	922.23	-1.20	-38	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10	41.27	1703.33	-4.28	-40	0.00	0.00	2.00	4.44	2.00	4.44
15	40.96	1677.45	11.10	-40	1.00	2.22	4.00	8.89	1.00	2.22
20	37.12	1378.25	3.24	-40	1.00	2.22	4.00	8.89	0.00	0.00
25	31.63	1000.45	1.65	18	3.00	6.67	2.00	4.44	0.00	0.00
30	27.17	738.23	1.31	8	5.00	11.11	1.00	2.22	0.00	0.00
35	22.67	513.86	1.28	20	5.00	11.11	1.00	2.22	2.00	4.44
40	17.04	290.28	0.82	8	6.00	13.33	0.00	0.00	4.00	8.89
45	12.73	162.00	0.64	16	6.00	13.33	3.00	6.67	2.00	4.44
50	9.64	93.02	0.55	16	7.00	15.56	2.00	4.44	3.00	6.67
55	7.56	57.20	0.48	16	8.00	17.78	2.00	4.44	6.00	13.33
60	6.16	37.98	0.43	14	9.00	20.00	1.00	2.22	7.00	15.56
65	5.71	32.59	0.41	14	9.00	20.00	3.00	6.67	7.00	15.56
70	5.42	29.35	0.41	14	8.00	17.78	6.00	13.33	7.00	15.56
75	5.19	26.94	0.42	12	6.00	13.33	7.00	15.56	10.00	22.22
80	4.33	18.77	0.37	12	7.00	15.56	9.00	20.00	10.00	22.22

Tabla 2: Estadísticos descriptivos y análisis de porcentaje para los valores de 8, 10 y 12 obtenidos en la jeringa de 10 ml.

TIEMPOS (minutos)	DESV. EST.	VARIANZA	COEF. DE VAR	MODA	# de ocho	Porcentaje de 8	# de diez	Porcentaje de 10	# de doce	Porcentaje de 12
5	38.78	1503.62	1.98	-40	0	0.00	0	0.00	0	0.00
10	24.68	609.00	1.03	26	0	0.00	0	0.00	1	2.22
15	11.53	133.02	0.49	16	0	0.00	0	0.00	4	8.89
20	7.11	50.54	0.39	12	0	0.00	1	2.22	9	20.00
25	3.75	14.07	0.24	16	0	0.00	3	6.67	10	22.22
30	3.25	10.54	0.23	14	1	2.22	9	20.00	8	17.78
35	2.81	7.92	0.21	12	2	4.44	9	20.00	12	26.67
40	2.53	6.39	0.20	12	3	6.67	9	20.00	16	35.56
45	2.49	6.22	0.20	12	4	8.89	9	20.00	18	40.00
50	2.51	6.29	0.21	10	4	8.89	16	35.56	14	31.11
55	2.31	5.35	0.20	10	4	8.89	18	40.00	13	28.89
60	2.34	5.48	0.21	10	5	11.11	19	42.22	12	26.67
65	2.47	6.10	0.22	10	5	11.11	20	44.44	10	22.22
70	2.37	5.64	0.22	10	8	17.78	20	44.44	10	22.22
75	2.50	6.23	0.24	10	8	17.78	20	44.44	9	20.00
80	2.38	5.68	0.23	10	8	17.78	21	46.67	10	22.22

un 93.33% de la población muestral. La desviación estándar, la varianza y el coeficiente de variación para cada tiempo se encuentran descritos en la Tabla 2.

2.2.3 Jeringa de 1 ml vs jeringa de 10 ml.

Por último se analizaron las varianzas entre ambas jeringas en los mismos tiempos usando la prueba de 2 varianzas con un 95% de intervalo de confianza. Se determinó que existe diferencia significativa entre las varianzas de las jeringas de 1 ml y 10 ml en todos los tiempos ya que en todos los casos se obtuvieron valores de $p < 0.05$, a excepción de los 5 minutos en el cual $p = 0.109$, como se puede observar en los gráficos ubicados en la sección de Anexos.

2.3 Discusión

La sangre del caballo posee la propiedad de una sedimentación rápida a comparación con otros animales domésticos (Nóra, Bakos Gábor y Reiczigel, 2004). Los glóbulos rojos de caballo son más “pegajosos” que cualquier otro mamífero, ya que tienden a unirse cuatro veces más rápido que los glóbulos rojos de los humanos. Además, las proteínas del plasma equino contribuyen a su propiedad de adhesión o pegajosidad. Las moléculas de fibrinógeno en la sangre equina son 40% más masivas que en humanos, perros, y vacas, haciendo que los glóbulos rojos equinos se adhieran más (Equine Health Labs, 2015). La sangre equina tiene una tasa de sedimentación mayor que la sangre humana (Fantl y Marr, 1958).

Otra propiedad que posee la sangre equina, refiriéndose al proceso de coagulación, es que la formación de tromboplastina en la sangre equina ocurre a una tasa similar a la sangre humana, pero las subsecuentes reacciones en la sangre equina se encuentran retardadas. Conjuntamente, la tasa de formación de trombina en la sangre equina es más lenta que en la sangre humana. Esto puede darse debido a un inadecuado número de plaquetas y

también al hecho de que las plaquetas equinas muestran menos tendencia a liberar fosfolípidos durante la coagulación (Fantl y Marr, 1958; Dabrowska, Wisniewski, Krumrych y Danek, 1997).

En este estudio el tamaño de la muestra objetivo era de 70 caballos, sin embargo tan solo se pudo realizar el estudio en 45 caballos debido a que el acceso fue limitado en un inicio y posteriormente surgió la crisis sanitaria causada por el virus COVID-19. Así pues se recomienda en estudios futuros aumentar el tamaño de la muestra. El tamaño de la muestra fue calculado usando el programa Mini Tab 18, con una potencia de 0.9 y relación entre 2.37 y 0.42 en la prueba de Levene 2 varianzas.

De las substracciones realizadas se obtuvieron los valores de 8, 10 y 12 en mayor frecuencia. Ya que el valor de 12 se presentó en el 73.33% de la población muestral, se puede deducir que este es el valor más adecuado para restar del valor de hematocrito obtenido por sedimentación en jeringas de 1 ml y así obtener un valor aproximado al que sería obtenido por centrifugación. Con el fin de encontrar el tiempo óptimo en el cual se puede realizar la lectura del hematocrito, se evaluó en qué tiempo la desviación estándar, la varianza y el coeficiente de variación fueron menores siendo a los 80 minutos en el caso de la jeringa de 1ml como se puede observar en la Tabla 1.

De igual manera para las jeringas de 10 ml el valor de 12 se presentó en un porcentaje elevado (93.33% de la población muestral), de lo cual se puede deducir que éste aparentemente es el valor a restar del valor de hematocrito obtenido por sedimentación en jeringas de 10 ml. No obstante, al analizar el tiempo en el que la desviación estándar, la varianza y el coeficiente de variación son menores, no coincide con el tiempo en el cual se presentó en mayor frecuencia el valor de 12. Por lo que se optó en seguir la siguiente opción viable que tuviera mayor porcentaje en la población muestral que en este caso es el valor de 10 con un 71.11%. La desviación estándar, la varianza y el coeficiente de

variación tienen sus valores menores a los 55 minutos y el valor de 10 se presenta en un 40% en este tiempo. Si bien no es el mayor porcentaje de frecuencia del valor de 10, es el 4to mejor porcentaje como se puede observar en la Tabla 2 en la cual se presentan los valores resaltados en degradé de colores siendo el color más fuerte el de mayor valor.

Al comparar los porcentajes de caballos en los cuales el uso de jeringas de 1ml fue válido con las jeringas de 10 ml para estimar el hematocrito por sedimentación, se obtuvo que el uso de jeringas de 10 ml tiene un mayor alcance. Es decir que, al usar una jeringa de 10 ml para estimar el hematocrito de un caballo, se puede tener una certeza del 93.33% de que vamos a obtener un valor similar que si hubiéramos obtenido el valor de hematocrito por centrifugación. A diferencia de la jeringa de 1 ml la cual nos da una certeza de 66.67%. Con base en esto se recomienda el uso de jeringas de 10 ml para la estimación de hematocrito por sedimentación en caballos, siendo a los 55 minutos el tiempo más óptimo para su lectura.

En caso de usar jeringas de 1 ml se debe tomar en cuenta que la lectura debe ser realizada a los 80 minutos de colocar la muestra en posición vertical y al valor obtenido se le debe restar 12 unidades. También se debe tomar en cuenta que este cálculo fue válido para el 22.22% de la población muestral por lo que el valor obtenido por medio de este método no representó el valor real del hematocrito en el 77.78% de los caballos.

Por otra parte, en caso de usar jeringas de 10 ml se debe tomar en cuenta que la lectura debe ser realizada a los 55 minutos de colocar la muestra en posición vertical y al valor obtenido se le debe restar 10 unidades. Este cálculo fue válido para el 40% de la población muestral por lo que el valor obtenido no representó el valor real del hematocrito en el 60% de los caballos. En caso de que el médico veterinario desee tener una mayor seguridad de que el uso de este método será válido, puede realizar la lectura del hematocrito a los 80 minutos debido a que en este estudio fue el tiempo en el que se

presentó el mayor porcentaje de validez (46.67%). No obstante la desviación estándar, el coeficiente de variación y la varianza son mayores a comparación de los 55 minutos como se observa en la Tabla 2.

En contraste con el estudio realizado por Nóra, Bakos Gábor y Reiczigel (2004), no se utilizaron heparina ni citrato tri-sódico como anticoagulantes en las jeringas. Esto conllevó a que en algunas muestras las células sanguíneas se quedaran pegadas a la pared de la jeringa afectando a la correcta lectura del hematocrito (Anexo 1). Esto se presentó en el 11.11% de las jeringas de 1 ml mientras que en las jeringas de 10 ml se presentó en el 4.44%. En caso de que esto sucediera se puede volver a tomar la muestra sanguínea con una jeringa de 5ml heparinizada y esperar 60 minutos para la lectura del hematocrito como se recomienda en el estudio de Nóra et. al (2004).

En este estudio se obviaron variables inherentes al caballo (como edad, sexo, raza, etc.) e inherentes al ambiente (como temperatura ambiental, exposición a la luz solar, etc.) ya que el propósito de este trabajo es que pueda ser aplicado a todos los caballos independientemente de las posibles variables. Cabría preguntarse si estas variables pueden afectar de manera significativa en los resultados obtenidos. Un factor que puede afectar la velocidad con la que se sedimenta la sangre en las jeringas podría ser la temperatura ambiental o la altitud en la que se realizó este estudio (2.850 msnm). Ya que en un estudio previo realizado por Izurieta, Luna, Cedeño y Chacha en 2017, se encontró que en caballos nacidos o criados a más de 3.000 msnm en la sierra centro norte ecuatoriana, los valores de hematocrito, volumen corpuscular medio, hemoglobina corpuscular media, células de la línea blanca y plaquetas son significativamente diferentes en comparación a referencias bibliográficas internacionales (Böhmwald, Wegmann y Witter, 1986; Díaz, Gavidia, Li y Tío, 2011).

Cabe añadir que este estudio fue realizado en caballos clínicamente sanos, por lo que los resultados presentados en este trabajo pueden o no ser aplicables a caballos enfermos. Debido a que las patologías como colitis, endotoxemia, síndrome de abdomen agudo (cólico) y sepsis están asociadas con la alteración de la hemostasia, llevando a anormalidades en la coagulación (Giese, 2015). A esto hay que agregar que el método de estimar el hematocrito por sedimentación propuesto en este trabajo puede no ser válido para caballos que posean trastornos hemorrágicos congénitos los cuales alteran la hemostasia (Cotter, 2019).

En este trabajo se demostró que el uso de jeringas de 1ml y 10 ml para la medición de hematocrito por medio de sedimentación es válido. Aunque no es un método tan preciso como la centrifugación, es un método que puede ser utilizado a campo. En futuras investigaciones se podrían utilizar jeringas de diferente medida o estudiar en que magnitud variables como temperatura ambiental, edad, altura, entre otras, afectan al proceso de sedimentación de la sangre. También se recomienda realizar un estudio con un mayor número de caballos clínicamente sanos y posteriormente realizarlo con caballos que padezcan alguna patología.

3. CONCLUSIONES

Mediante el uso de la prueba 2 varianzas de Mini Tab 18 se concluye que si existe una diferencia significativa entre las mediciones de hematocrito de las jeringas de 1 ml y 10 ml. La medición de hematocrito por sedimentación de la sangre en jeringas de 1ml es un método válido en un 66.67%, mientras que en jeringas de 10 ml es un método válido en un 93.33% por lo que se recomienda el uso de estas últimas. Por último, el tiempo óptimo para realizar la lectura del hematocrito en las jeringas de 1 ml es a los 80 minutos y se debe restar 12 unidades, mientras que en las jeringas de 10 ml es a los 55 minutos y se debe restar 10 unidades.

4. BIBLIOGRAFÍA

- Böhmwald, H., Wegmann, E. y Witter, F. (1986). Valores hematológicos en caballos mestizos chilenos de silla. Universidad Austral de Chile. Valdivia.
<http://web.uchile.cl/vignette/monografiasveterinaria/monografiasveterinaria.uchile.cl/>
- Cornell University College of Veterinary Medicine (2013). Hematocrit. Recuperado el 21 de enero de 2020 de <http://eclinpath.com/hematology/tests/hematocrit/>
- Cotter, S. (2019). Bleeding Disorders of Horses. Recuperado el 08 de abril de 2020 de <https://www.msdtvetmanual.com/horse-owners/blood-disorders-of-horses/bleeding-disorders-of-horses>
- Dabrowska, J., Wisniewski, E., Krumrych, W. y Danek, J. (1997). Blood coagulation characteristics in horses. The influence of breed. Recuperado el 17 de abril de 2020 de https://www.researchgate.net/publication/267394357_Blood_coagulation_characteristics_in_horses_The_influence_of_breed
- Díaz, H., Gavidia, C., Li, O. y Tío, A. (2011). Valores Hematológicos, bilirrubina y actividad enzimática sérica en caballos peruanos de paso del valle de Lurín. *Rev. Inv Vet Perú.* 22(3):213- 222.
- Equine Health Labs (2015). Sticky Blood in Horses. Recuperado el 08 de abril de 2020 de <https://www.equinehealthlabs.com/sticky-blood-in-horses>
- Fantl, P. y Marr, A. (1958). The Coagulation of Horse Blood. *The Journal of physiology*, Recuperado el 08 de abril de 2020 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1356673/?page=1>

- Giese, M. (2015). Study points to new standards for evaluating blood clotting in horses. Recuperado el 08 de abril de 2020 de <https://vetmed.illinois.edu/study-points-to-new-standards-for-evaluating-blood-clotting-in-horses/>
- Izurieta, J., Luna, D., Cedeño, Y. y Chacha, S. (2017). Determinación de los valores de referencia en el hemograma de caballos nacidos o criados a más de 3.000 msnm en la sierra centro norte ecuatoriana. Recuperado el 30 de marzo de 2020 de <https://www.redalyc.org/jatsRepo/4760/476051824006/html/index.html>
- Nóra, S., Bakos, Z., Gábor, P. y Reiczigel, J. (2004). Aestimation of packed cell volume in horses on the basis of blood sedimentation. Recuperado el 22 de enero de 2020 de https://www.researchgate.net/publication/288424163_Aestimation_of_packed_cell_volume_in_horses_on_the_basis_of_blood_sedimentation
- Southwood, L. (2013). Normal Ranges for Hematology and Plasma Chemistry and Conversion Table for Units. Recuperado el 16 d abril de 2020 de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/9781118704783.app3>
- Virginia Tech (2017). SOP: Blood Collection in the Horse. Recuperado el 20 de enero d 2020 de https://ouv.vt.edu/content/dam/ouv_vt_edu/sops/large-animal/sop-equine-blood-collection.pdf
- Voigt, G. y Swist, S. (2011). Hematology Techniques and Concepts for Veterinary Technicians. Recuperado el 16 de abril de 2020 de <https://books.google.com.ec/books?id=nQYrAwAAQBAJ&pg=PT52&dq=what+is+the+hematocrit+veterinary&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwuiqKy4k-7oAhXuYN8KHePrDFsQ6AEIUTAE#v=onepage&q=what%20is%20the%20hematocrit%20veterinary&f=false>

Wennecke, G. (2004). Hematocrit- a review of different analytical methods. Recuperado el 20 de enero de 2020 de <https://acutecaretesting.org/en/articles/hematocrit--a-review-of-different-analytical-methods>

Wilson, D. (2010). Clinical Veterinary Advisor – E-book: The Horse. Recuperado el 16 de abril de 2020 de https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=ZZs_WBKZ-PwC&oi=fnd&pg=PP1&dq=clinical+veterinary+advisor&ots=4ExhhzlaUv&sig=qc45qFq2KYYzNo9hP0NGvTvm7IM#v=onepage&q=clinical%20veterinary%20advisor&f=false

5. ANEXOS

Gráfico 1 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 5 minutos.

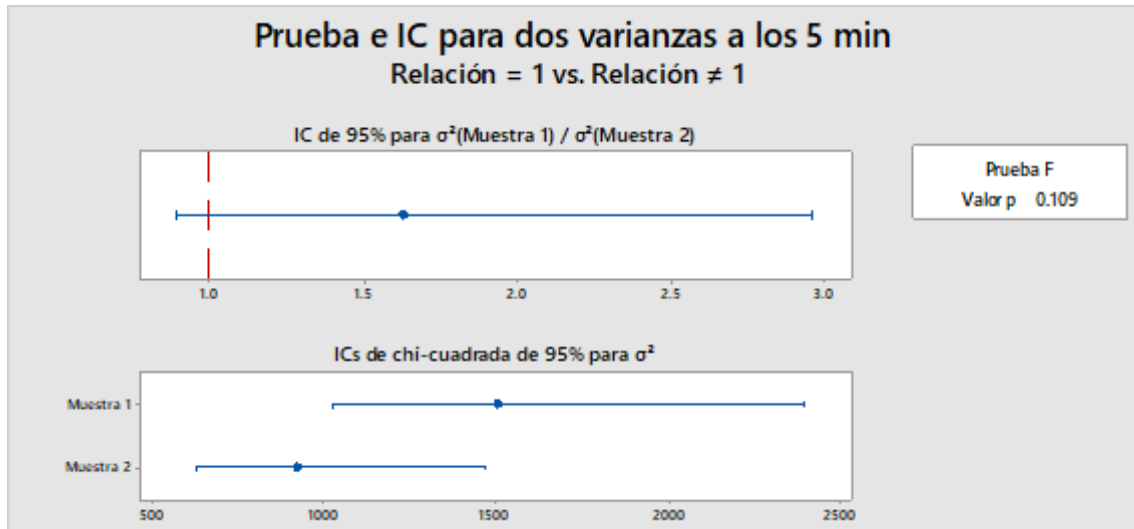


Gráfico 2 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 10 minutos.

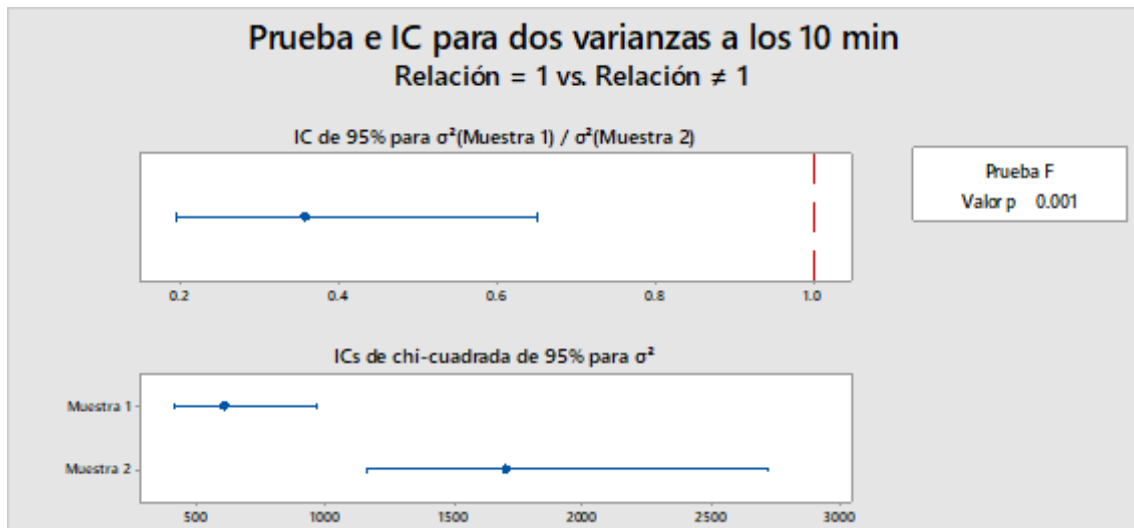


Gráfico 3 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 15 minutos.

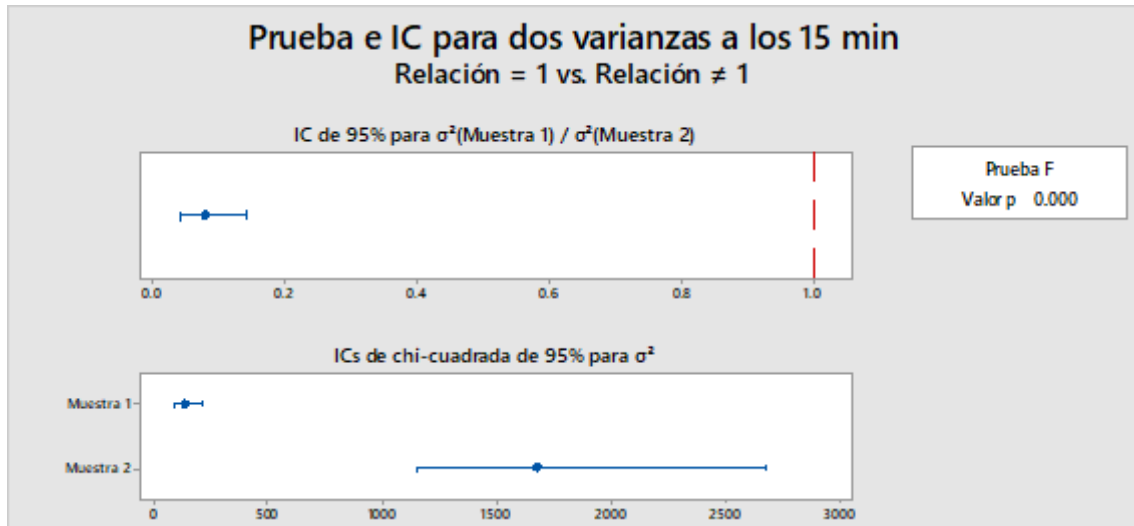


Gráfico 4 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 20 minutos.

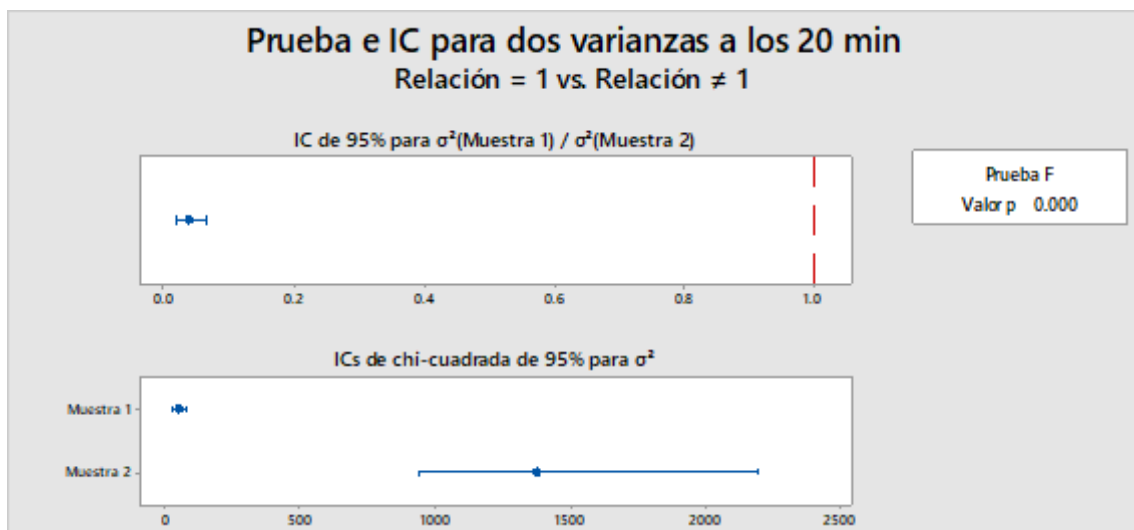


Gráfico 5 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 25 minutos.

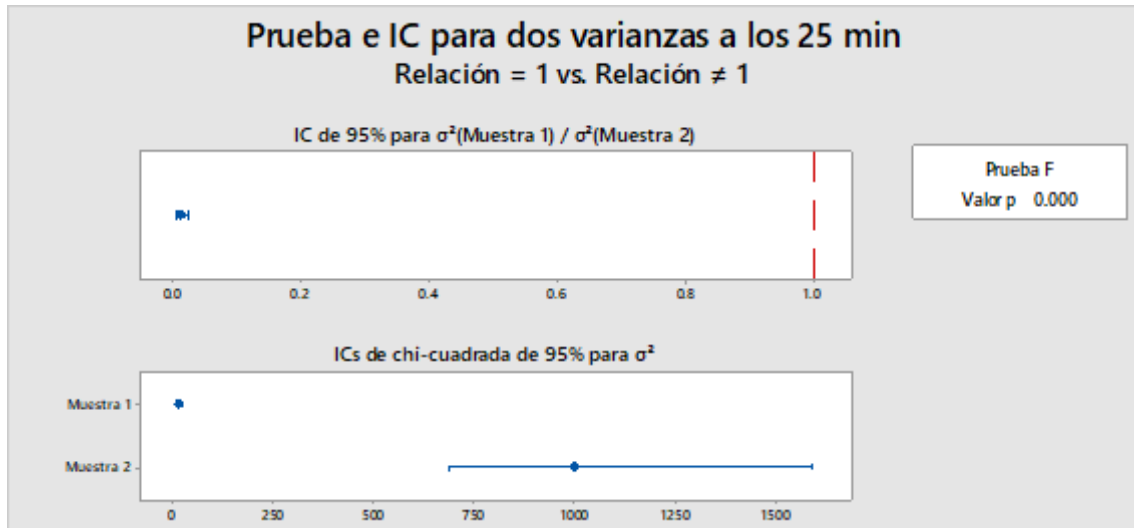


Gráfico 6 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 30 minutos.

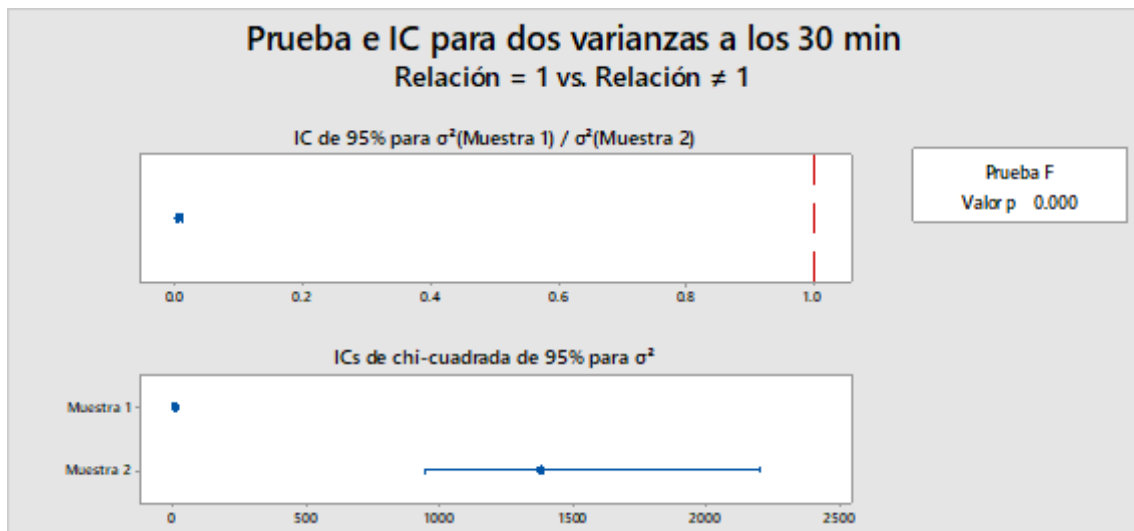


Gráfico 7 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 35 minutos.

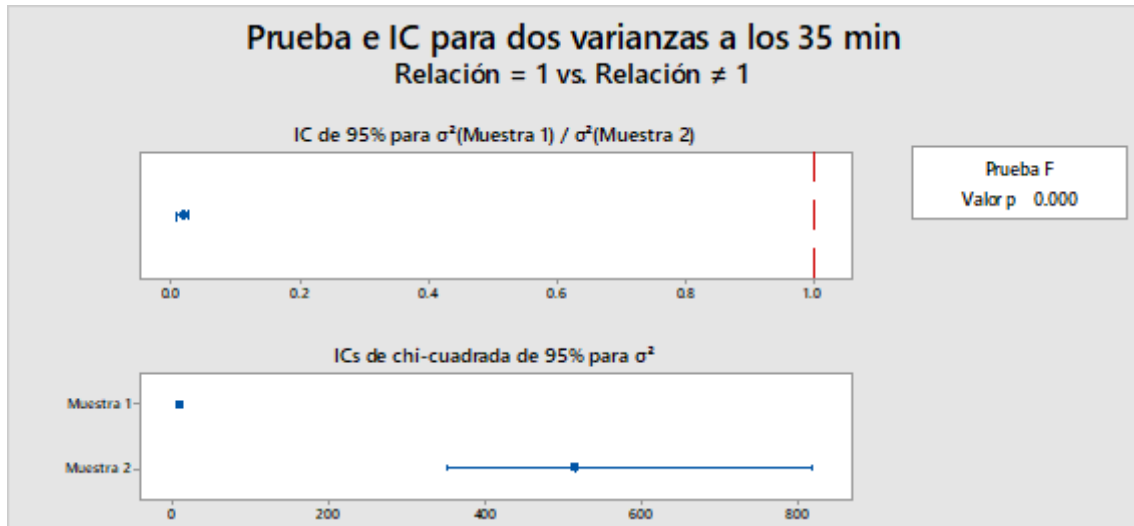


Gráfico 8 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 40 minutos.

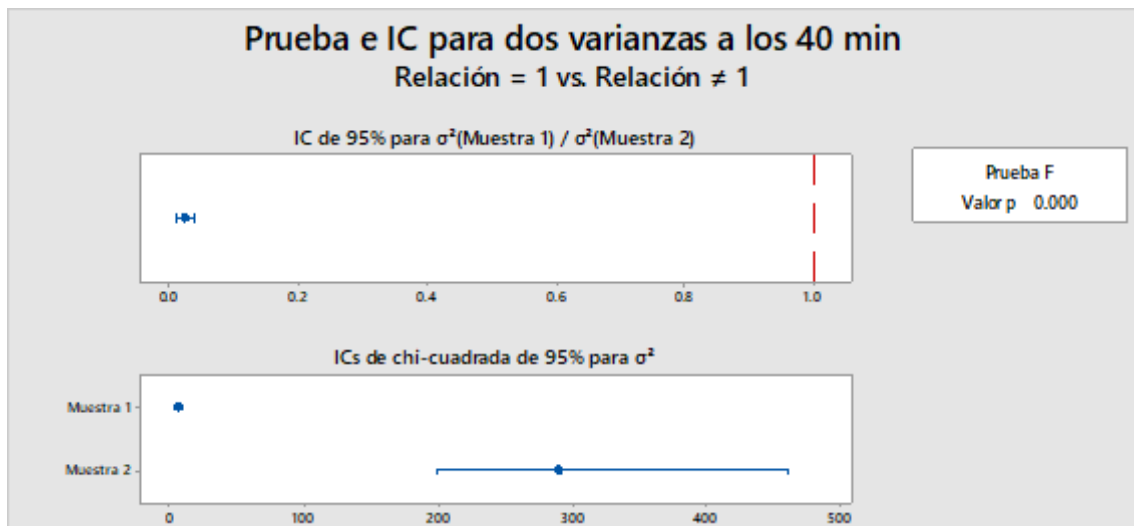


Gráfico 9 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 45 minutos.

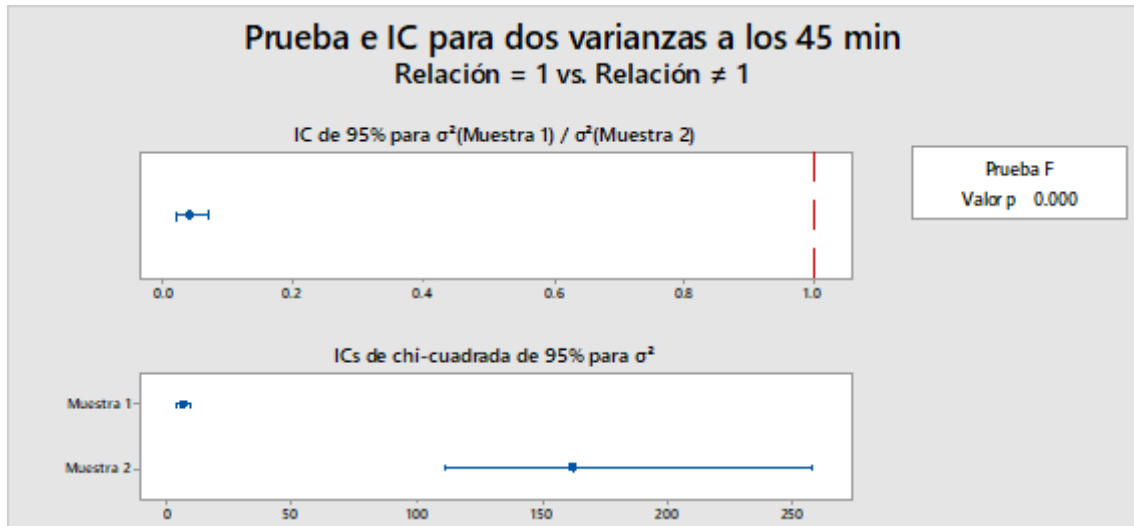


Gráfico 10 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 50 minutos.

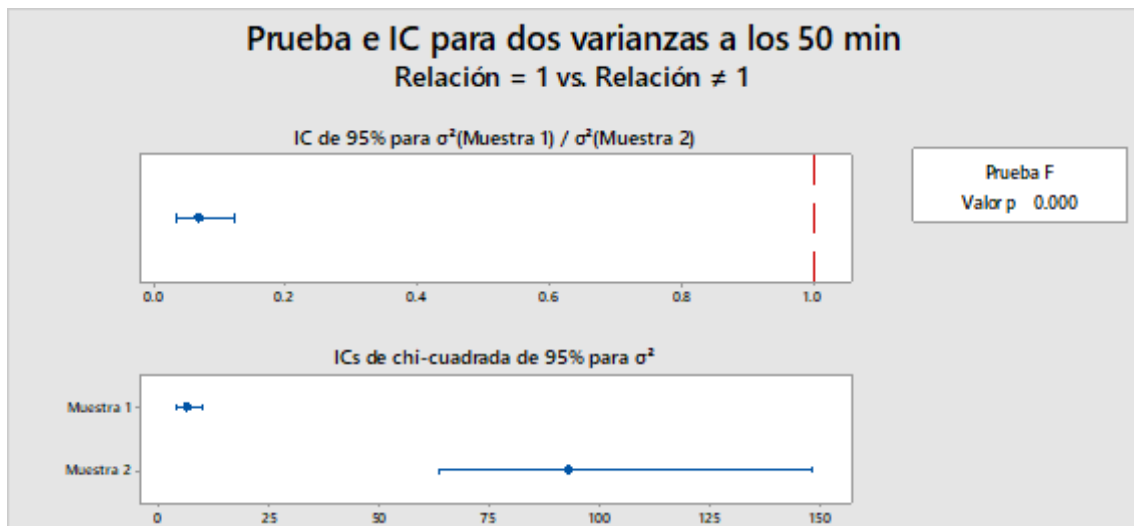


Gráfico 11 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 55 minutos.

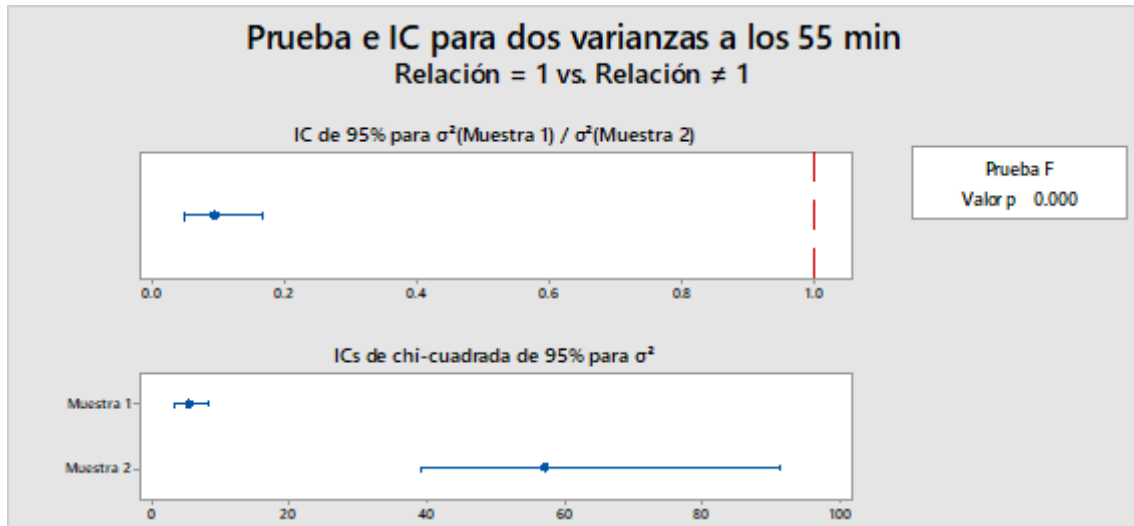


Gráfico 12 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 60 minutos.

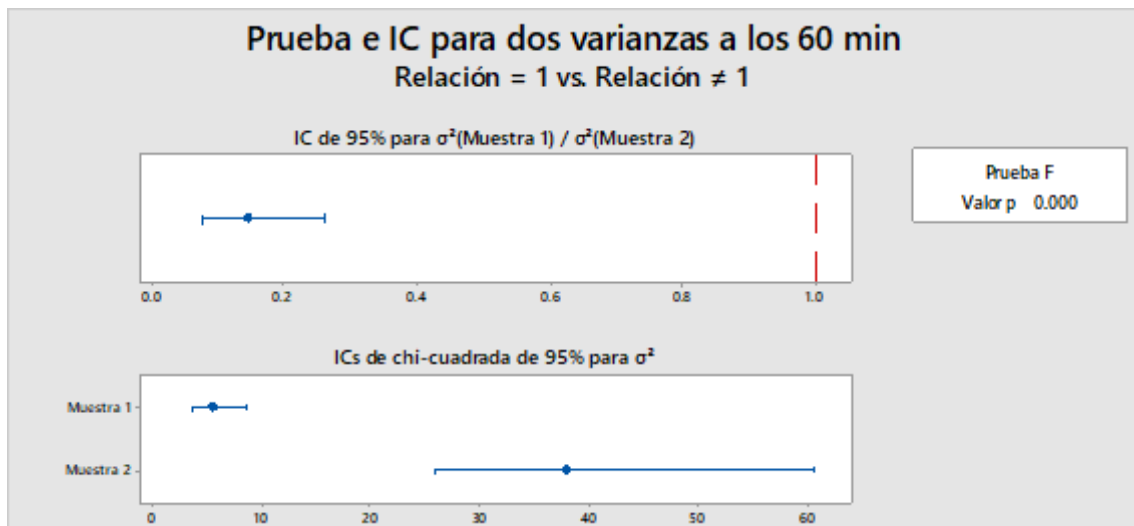


Gráfico 13 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 65 minutos.

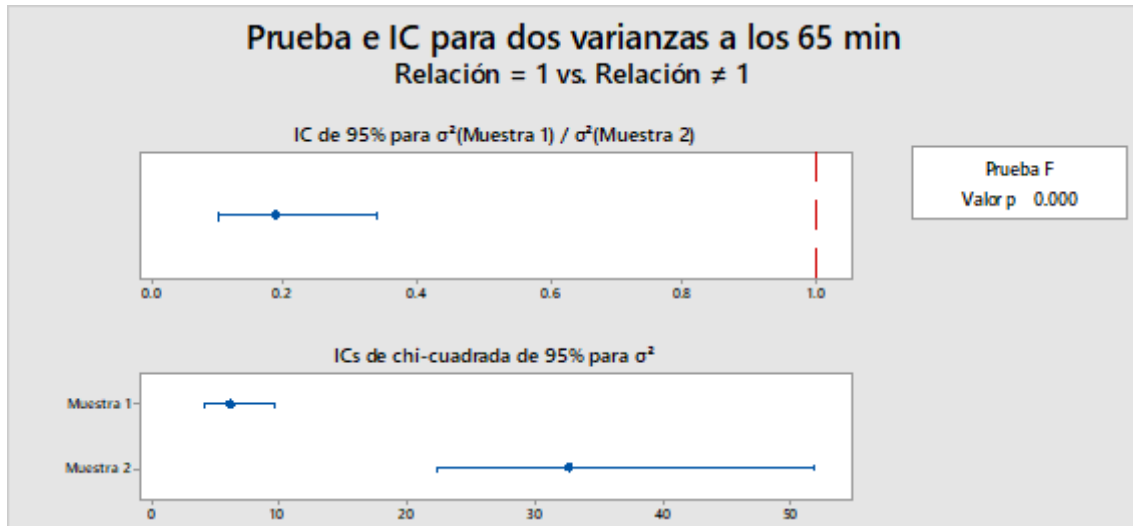


Gráfico 14 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 70 minutos.

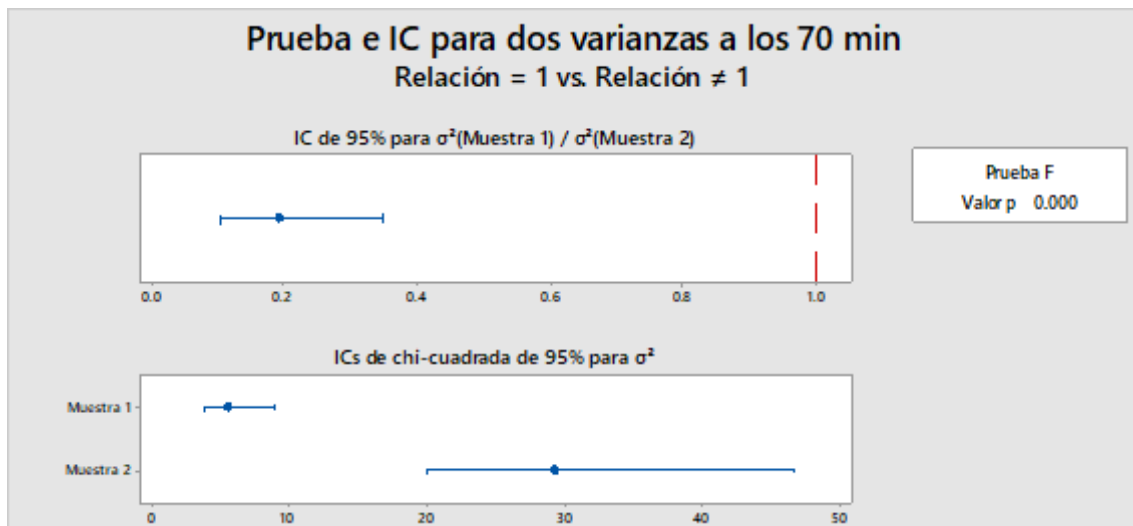


Gráfico 15 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 75 minutos.

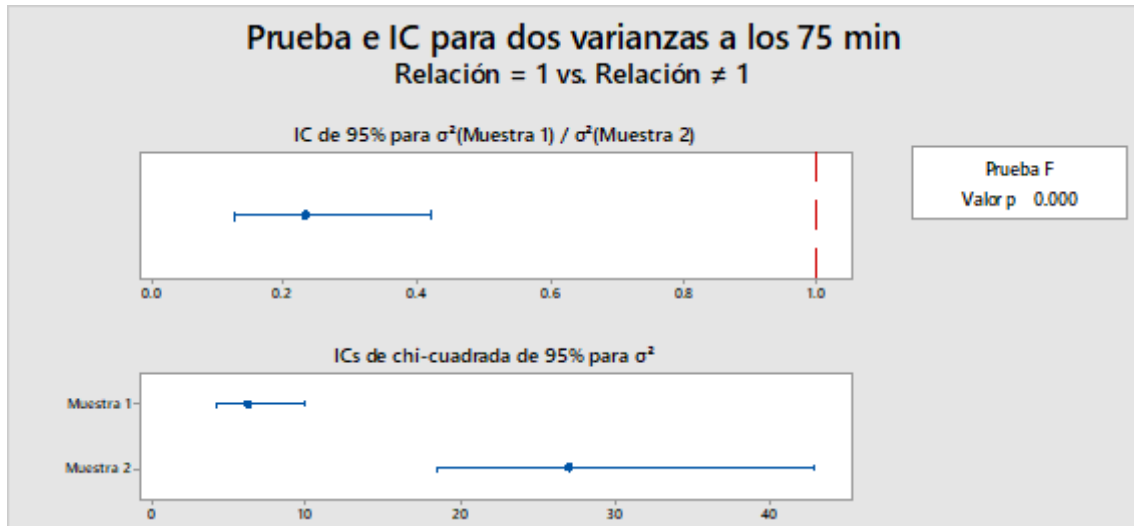
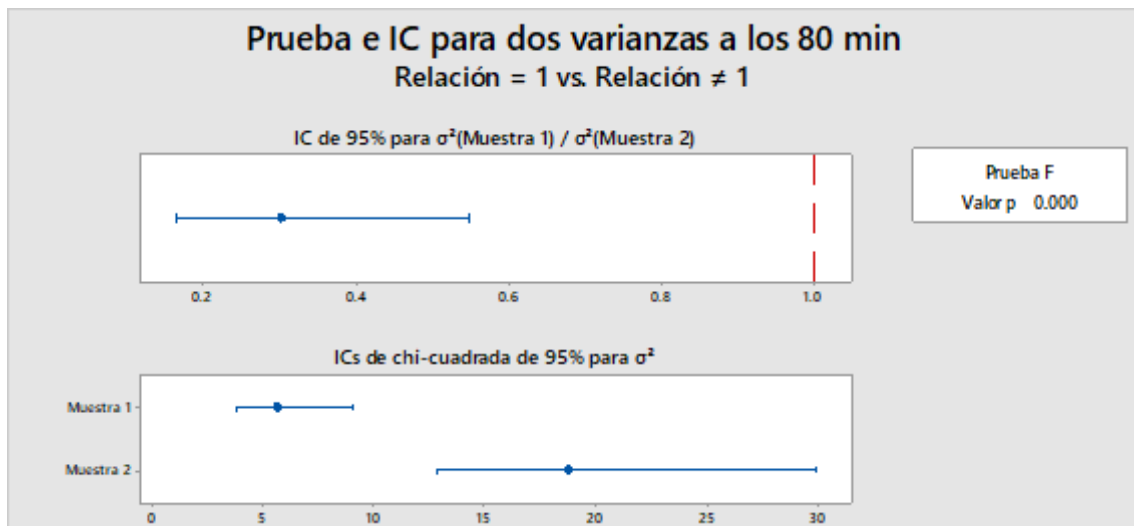


Gráfico 16 : Análisis de 2 varianzas del programa Mini Tab 18 entre la varianza de la jeringa de 10 ml (muestra 1) y la varianza de la jeringa de 1 ml (muestra 2) a los 80 minutos.



Anexo 1 : Jeringa de 10 ml y 1 ml con células adheridas a su pared.

