



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA NATURALEZA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA
CARRERA MEDICINA VETERINARIA
SEDE DE LA PATAGONIA**

**DETERMINACIÓN DE LOS INTERVALOS DE REFERENCIA DE LA
RELACIÓN PROTEÍNA FIBRINÓGENO DE PERROS (*Canis lupus
familiaris*) ADULTOS CLÍNICAMENTE SANOS EN LA REGIÓN DE LOS
LAGOS DURANTE EL PRIMER SEMESTRE DEL AÑO 2024**

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO

Profesor guía: Mg. Carolina Pino Olguín.

Estudiante: Joaquín Vicente Stewart Zúñiga.

Puerto Montt, Chile

2024

DERECHOS DE AUTOR

© Joaquín Vicente Stewart Zúñiga

Se autoriza la reproducción parcial o total de esta obra con fines académicos, por cualquier forma, medio o procedimiento, siempre y cuando se incluya la cita bibliográfica del documento.

Puerto Montt, Chile

2024

HOJA DE CALIFICACIÓN

En Puerto Montt el 17 de julio de 2024, los abajo firmantes dejan constancia que el (la) estudiante Joaquín Vicente Stewart Zúñiga de la carrera de Medicina Veterinaria ha aprobado su memoria de título para optar al grado de Médico Veterinario con una nota de 7,8

Dra. Carolina Pino

Dra. Paulina Alarcón

Dra. Danixa Martínez

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera agradecer a mi profesora guía **Carolina Pino** por apoyarme a largo de este proyecto, dándome las facilidades y resolviendo mis dudas siempre que pudiera.

Agradezco a mi madre **Silvia Viviana Zúñiga Meza** por ayudarme constantemente durante este proyecto, tanto en la recolección de muestras como en el apoyo moral.

Agradezco a todo el personal de **la clínica veterinaria Antupiren** por darme apoyo necesario, conocimientos y experiencia que facilitó el trabajo de esta tesis.

Agradezco a mis **compañeros de carrera y amigos** que durante todo este proyecto me hicieron mantener la fuerza para seguir.

Agradezco a los profesores: **Ricardo Oyarzun, Gloria Meniconi y Nicolas Colhuan**, que de manera directa e indirecta colaboraron en la realización de este estudio y que sin ellos no se podría haber logrado.

TABLA DE CONTENIDOS

DERECHOS DE AUTOR.....	i
HOJA DE CALIFICACIÓN	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
RESUMEN.....	ix
PALABRAS CLAVES	ix
ABSTRACT.....	x
KEYWORDS	x
1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Plasma.	1
1.2 Proteínas plasmáticas.	1
1.2.1 Albúminas.	2
1.2.2 Globulinas.	2
1.2.3 Fibrinógeno.	3
1.3 Coagulación.	3
1.3.1 Fibrina.	4
1.4 Relación proteína/fibrinógeno.....	4
1.5 Intervalos de referencia.	4
1.6 Valor científico.....	5
2 HIPÓTESIS	6
3 OBJETIVOS	7
3.1 Objetivo general	7
3.2 Objetivos específicos.....	7
4 MATERIALES Y MÉTODOS	8
4.1 Materiales:.....	8
4.2 Diseño experimental.....	9
4.3 Población y muestra.	9
4.4 Criterios de inclusión.	10
4.4.1 Criterio 1: Autorización del tutor.	11
4.4.2 Criterio 2: Sano.	11
4.4.3 Criterio 3: Edad.	11

4.4.4 Criterio 4: Condición corporal.....	12
4.4.5 Criterio 5: Vacuna.	13
4.4.6 Criterio 6: Enfermedad periodontal.	14
4.4.7 Criterio 7: Gestación y lactancia.....	17
4.5 Lista criterios de inclusión.	17
4.6 Lista criterios de exclusión.	17
4.7 Obtención de la muestra.	18
4.7.1 Jeringa.	19
4.7.2 Elección de aguja.....	19
4.7.3 Tubo de muestra.....	20
4.8 Control de la toma de muestra.	20
4.9 Transporte de la muestra.	20
4.10 Análisis de la muestra.	21
4.10.1 Hematocrito.....	21
4.10.2 Medición de fibrinógeno.	22
4.10.3 Medición de proteínas plasmáticas totales.	25
4.11 Cálculo de relación proteína/fibrinógeno.	28
4.12 Control de procesamiento de muestra.....	28
4.13 Método de análisis estadístico.	28
4.14 Método de medias o paramétricos.	29
4.14.1 Media:	29
4.14.2 Desviación estándar:.....	29
4.14.3 Análisis de Shapiro-Wilk:	30
4.14.4 Comparación de medias T Student:.....	30
4.14.5 Análisis de varianza ANOVA:.....	30
4.15 Método de logaritmos no-paramétricos.	31
4.15.1 Prueba Kruskal-Wallis:.....	31
4.15.2 Prueba U Mann-Whitney:.....	31
5 RESULTADOS.....	31
5.1 Totalidad de muestras obtenidas y válidas.....	32
5.2 Diferenciación de muestras por sexo de los individuos y estado reproductivo. 32	
5.3 Talla de los individuos y representación por sexos.	35

5.4	Consumo y calidad de los alimentos.	36
5.5	Análisis de analitos.....	37
5.6	Análisis de analitos por variables fisiológicas y ambientales.	38
5.6.1	Análisis de analitos según sexo.	40
5.6.2	Análisis de analitos según estado reproductivo.	43
5.6.3	Análisis de analitos según talla.	46
5.6.4	Análisis de analitos según alimentación de los individuos.	49
5.7	Intervalos de analito.	52
5.7.1	Intervalos de proteínas totales.	53
5.7.2	Intervalos de fibrinógeno.....	53
5.7.3	Intervalos de relación proteína/fibrinógeno.	54
5.7.4	Intervalos de referencia de los analitos del estudio.....	55
6	DISCUSIÓN.....	56
7	CONCLUSIÓN	61
8	REFERENCIAS.....	62
9	ANEXOS	74
	Anexo 1: Consentimiento informado.	74
	Anexo 2: Información sobre el procedimiento.	76
	Anexo 3: Examen clínico.....	77
	Anexo 4. Preguntas de anamnesis.....	82
	Anexo 5: Condición corporal.	85
	Anexo 6: Checklist toma de muestra.....	86
	Anexo 7: Lista de cotejo de procesamiento de muestra.....	90
	Anexo 8: Autorización para utilizar instalaciones.	92

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1: Determinación estimada de edad adulta en caninos según diferentes tallas, edades y alzada a la cruz.....	12
Tabla 2: Grados de gingivitis.....	15
Figura 1. Contención de un perro en estación (A) y sentado (B).	19
Figura 2. Esquema de los componentes del hematocrito posterior a la centrifugación.....	22
Figura 3. Hematocrito pre-centrifugado (a) y hematocrito post-centrifugado (b)..	22
Figura 4. Posición correcta del hematocrito en el baño María.	24
Figura 5. Medición de fibrinógeno post-baño María y centrifugado.	25
Figura 6. Lugar y corte del hematocrito.	26
Figura 7. Gotas en la cámara del refractómetro.	26
Figura 8. Escalas de medida de un refractómetro.....	27
Figura 9. Diferencia de color en las medidas del refractometro.	27
Figura 10. Distribución porcentual de muestras válidas	32
Figura 11. Distribución porcentual según sexo	33
Figura 12. Distribución porcentual según estado reproductivo.....	34
Figura 13. Gráfico según estado reproductivo y sexo	35
Figura 16. Gráfico de variables descriptivas estadísticas de analitos	38
Figura 17. Diagrama de cajas y bigotes según proteínas totales por sexo de los individuos muestreados, con outliers.	39
Figura 18. Diagrama de cajas y bigotes según proteínas totales por sexo de los individuos muestreados, sin outliers.	40
Figura 19. Distribución normal según qqPlot de proteínas según sexo	41
Figura 20. Distribución sin normalidad según qqPlot de fibrinógeno según sexo	42
Figura 21. Distribución sin normalidad según qqPlot de relación proteína/fibrinógeno según sexo	43
Figura 22. Distribución normal según qqPlot de proteínas con relación a estado reproductivo.....	44
Figura 23. Distribución sin normalidad según qqPlot de fibrinógeno según estado reproductivo.....	45

Figura 24. Distribución sin normalidad según qqPlot de la ecuación proteína/fibrinógeno según estado reproductivo	46
Figura 25. Distribución normal según qqPlot de proteínas según talla	47
Figura 26. Distribución sin normalidad según qqPlot de fibrinógeno en relación según talla.....	48
Figura 27. Distribución sin normalidad según qqPlot de la ecuación relación proteína/fibrinógeno según talla	49
Figura 28. Distribución normal según qqPlot de proteínas según alimentación...	50
Figura 29. Distribución sin normalidad según qqPlot de fibrinógeno según alimentación.....	51
Figura 30. Distribución sin normalidad según qqPlot de la ecuación relación proteína/fibrinógeno según alimentación	52
Figura 31. Campana de gauss de distribución de proteínas totales.....	53
Figura 32. Campana de gauss de distribución de fibrinógeno.....	54
Figura 32. Modelo de densidad de la relación proteína/fibrinógeno.....	55
Tabla 3. Intervalos de referencia de los analitos	55

RESUMEN

Las proteínas totales, el fibrinógeno y la relación proteína/fibrinógeno son parámetros bioquímicos utilizados en la medicina veterinaria de pequeños animales, proporcionando información sobre el estado de salud de nuestros animales. El objetivo de este estudio fue determinar los intervalos de referencia de estos analitos en perros adultos sanos, así como evaluar su impacto frente a variables fisiológicas, genéticas y ambientales. Se analizaron un total de 145 perros en estudio, agrupados según talla (pequeña, mediana, grande y gigante), tipo de alimentación (estándar, premium, súper premium, casera y mixta), sexo y estado reproductivo. Los resultados mostraron que las proteínas totales seguían una distribución normal, mientras que los valores de fibrinógeno y la relación proteína/fibrinógeno no. No se encontraron diferencias significativas en los analitos con relación a sexo, estado reproductivo, talla o alimentación. Los intervalos de referencia establecidos fueron: proteínas totales (48-80 g/l), fibrinógeno (1-6 g/l) y relación proteína/fibrinógeno (5-28 g/l) siendo estos intervalos más amplios que los actualmente utilizados en la región de Los Lagos. A pesar de que no se encontraron diferencias en las variables propuestas se debería utilizar un n compuesto por una mayor masa poblacional para futuras investigaciones.

PALABRAS CLAVES

Perros, proteínas totales, fibrinógeno, relación proteína/fibrinógeno, variables fisiológicas, variables ambientales

ABSTRACT

Total proteins, fibrinogen and the protein/fibrinogen ratio are biochemical parameters used in small animal veterinary medicine, providing information about the health status of our animals. The objective of this study was to determine the reference intervals of these analytes in healthy adult dogs, as well as to evaluate their impact against physiological, genetic and environmental variables. A total of 145 dogs were analyzed in the study, grouped according to size (small, medium, large and giant), type of diet (standard, premium, super-premium, homemade and mixed), sex and reproductive status. The results showed that total proteins followed a normal distribution, while fibrinogen values and the protein/fibrinogen ratio did not. No significant differences were found in the analytes in relation to sex, reproductive status, size or diet. The established reference intervals were total proteins (48-80 g/l), fibrinogen (1-6 g/l) and protein/fibrinogen ratio (5-28 g/l), these intervals being wider than those currently used in the Los Lagos region. Although no differences were found in the proposed variables, an n composed of a greater population mass should be used for future research.

KEYWORDS

Dogs, total proteins, fibrinogen, protein/fibrinogen ratio, physiological variables, environmental variables

1 INTRODUCCIÓN

La sangre es un tejido con participación directa en casi todos los procesos bioquímicos del organismo, su volumen puede variar de un 6 a un 11% del peso corporal en casi todos los animales domésticos y su principal función es el transporte de sustancias vitales y funciones del organismo, como son el oxígeno, hormonas e incluso desechos metabólicos producidos (Wittwer e Islas, 2021).

La sangre posee una matriz celular o también llamado componente celular representando un 25 a un 50% del volumen total de la sangre, la que contiene los componentes celulares: leucocitos, plaquetas y eritrocitos (Wittwer e Islas, 2021). Además, posee una parte líquida llamada plasma, la que en su estructura posee abundantes proteínas y lípidos (Ussa y Salgado, 2009), se distingue del suero ya que este es el resultado del proceso de coagulación, por lo tanto, no posee células sanguíneas, pero sí proteínas séricas, y una menor cantidad de fibrinógeno, ya que es utilizado en la formación del coágulo (Diccionario académico, 2023).

1.1 Plasma.

En el plasma se encuentran suspendidos diversas proteínas, nutrientes, electrolitos, gases y componentes celulares de la sangre, representa la mayor parte de la sangre siendo entre un 50 a un 78%, su principal componente es el agua siendo conformada en un 91% (Wittwer y Chihuailaf, 2021). El plasma representa alrededor del 5% del peso corporal de un humano y dentro de las proteínas disueltas en esta se pueden encontrar albúminas, globulinas, fibrinógeno, proteínas de la coagulación, de complemento, apolipoproteínas, entre las de mayor importancia (Tresguerres e Izaguirre, 2005).

1.2 Proteínas plasmáticas.

Las proteínas plasmáticas son componentes esenciales para el funcionamiento adecuado del organismo, son producidas principalmente por las células hepáticas y cumplen diversas funciones, como regular la presión osmótica, participar en los procesos de coagulación, cumplen también un papel inmunológico y en el transporte de gases y nutrientes a través del cuerpo (Tresguerres e Izaguirre, 2005; Wittwer y Chihuailaf, 2021).

1.2.1 Albúminas.

Las albúminas son proteínas que se sintetizan en hígado (Biblioteca nacional de medicina, 2022), por los hepatocitos y luego son llevadas a circulación donde permanecen alrededor de 21 días (Arroyo y Fernández, 2012), su síntesis es regulada por las presiones plasmáticas coloide osmóticas y cuando aumenta la osmolaridad intravascular la síntesis de estas proteínas baja (Tresguerres e Izaguirre, 2005). Posee carga negativa lo que la hace altamente hidrosoluble (Hankins, 2008), algunas de sus funciones principales son el transporte y mantener el equilibrio hídrico y oncótico (Biblioteca Nacional de Medicina, 2022). En casos de deshidratación, se genera un efecto de hemoconcentración y por consiguiente se ve un aumento de las proteínas plasmáticas, como el caso de la albúmina que es la proteína sérica de mayor proporción en sangre en perros (*Canis lupus familiaris*) (Barrero y Masgrau, 2021; Miñana y Moya, 2022), este aumento en la concentración de albúmina generará por consiguiente un aumento en las concentraciones totales de proteínas séricas (Hankins, 2008).

1.2.2 Globulinas.

Las globulinas son proteínas producidas por las células hepáticas conocidas como hepatocitos y también por células linfoides como los linfocitos B, poseen diversas funciones como inmunitaria, marcador de funcionalidad hepática y coagulación. Existen varios tipos de globulinas entre ellas están las gamma, alfa y beta (Biblioteca nacional de medicina, 2022), Las globulinas alfa se dividen en alfa 1 y 2, las alfa 1 son reactivas en procesos de fase aguda (Rosa et al., 2021), son las encargadas de facilitar el transporte

de sustratos y precursores como lípidos, hormonas y vitaminas a nivel sanguíneo. Las alfas 2 son similares a las alfa 1 ya que también ayudan a facilitar transporte de sustratos como los lípidos y polisacáridos (Martínez, 2018). Las globulinas beta y gamma son más ligadas a las inmunoglobulinas, en otras palabras, a diferencia de las alfas que actúan en la fase aguda estas actuarán en una etapa más tardía, las betas y las gammas engloban a los anticuerpos que median la respuesta linfóide humoral (Fernández, 2023).

1.2.3 Fibrinógeno.

El fibrinógeno es una glicoproteína de fase aguda que actúa principalmente en los procesos de coagulación (Vargas, 2016). Es una glicoproteína soluble en el plasma que se sintetiza en el retículo de los hepatocitos (Pérez et al., 2016), también es llamado factor I de la coagulación, viaja inactivado en sangre y cuando es requerido para estos procesos se activa mediante la trombina degradándose para formar fibrina (Malagón et al., 2011). Su principal función es ser sustrato endógeno en los procesos de hemostasia para la formación de la fibrina formando el coágulo (Flores et al., 2014).

El fibrinógeno también juega un papel como marcador de inflamación (González et al., 2008), al actuar como proteína de fase aguda de la inflamación su presencia puede aumentar en reacciones inflamatorias (Sociedad española de medicina de laboratorio, 2021), los leucocitos en respuesta a la activación del sistema inmune llegan al sitio de la lesión integrándose al coágulo uniéndose al fibrinógeno y a la fibrina activando las vías proinflamatorias, aumentando así la producción y liberación de citoquinas. También se describe que el fibrinógeno y la fibrina en casos de infecciones se movilizan para limitar el movimiento bacteriano (Vargas, 2016).

1.3 Coagulación.

El proceso de coagulación se da gracias a un proceso llamado hemostasis “la hemostasis es un proceso fisiológico que evita o disminuye el sangrado excesivo cuando existe un daño endotelial, al mismo tiempo es capaz de mantener el flujo sanguíneo

normal” (Ríos, 2019). Se divide en hemostasis primaria y secundaria, las hemostasis primarias pueden darse en casos de hemorragias leves como epistaxis o síndrome hemorrágico post operatorio (Rauch y Paris, 2018). La hemostasis secundaria es un proceso secuencial en el cual precursores inactivos se activan para formar una red de fibrina para darle resistencia al tapón plaquetario (Ríos, 2019).

1.3.1 Fibrina.

La fibrina es una proteína con participación en la formación del coágulo y se obtiene de la degradación del fibrinógeno por medio de la trombina (Instituto nacional del cáncer, 2011). La trombina ataca ciertos componentes de las cadenas del fibrinógeno, eliminando sus uniones y convirtiéndolo en un tipo de proteína llamada monómero de fibrina, esta actúa de forma activa en la coagulación formando una red de fibrina (Vargas, 2016).

1.4 Relación proteína/fibrinógeno.

La relación proteínas totales/ fibrinógeno es una relación matemática que se utiliza para ver si un individuo está cursando por procesos inflamatorios o de deshidratación, se utiliza la diferencia de las proteínas totales plasmáticas con el fibrinógeno para posteriormente dividirse por la cantidad de fibrinógeno (Mollinedo, 2004), los valores normales en un perro (*Canis lupus familiaris*) debería oscilar entre 10 a 15 g/L, si es menor a este rango el paciente podría estar cursando por un cuadro inflamatorio, si este valor supera el rango normal, se habla que el paciente está cursando por un proceso de deshidratación (Wittwer y Chihuailaf, 2021).

1.5 Intervalos de referencia.

Los intervalos de referencia son una herramienta que provee un punto de comparación para análisis de datos y resultados. Generalmente representan un rango en

el que se espera que la mayoría de los datos de una población se ubiquen. Esta definición suele derivarse de la media $\pm$ dos veces la desviación estándar o de los percentiles 0.025 y 0.975 de la población. Teniendo en consideración que existe un error esperado, cercano al 5%, refiriéndose a un total de datos que puede caer fuera del rango esperado (Martínez et al., 2021).

1.6 Valor científico.

Los intervalos de referencia utilizados actualmente por el Hospital Clínico Veterinario de la Universidad San Sebastián sede de la Patagonia región de Los Lagos son los intervalos establecidos por la Universidad Austral de Chile en el año 2004. Está establecido que cada laboratorio debería contar con sus propios intervalos de referencia ya que estos pueden variar por los métodos utilizados en cada instalación (Wittwer, 2019), a su vez estos intervalos fueron propuestos hace casi 20 años y en este lapso de tiempo han habido cambios importantes en la calidad de vida de los perros (*Canis lupus familiaris*) como la alimentación, bienestar animal, ambiente (Bertolini, 2014), estos factores provocan cambios en los valores de los analitos de los individuos (Wittwer, 2019), por esto es necesario que los intervalos de referencia utilizados en los laboratorios para evaluaciones diagnósticas tengan actualizaciones periódicas cada 3 a 5 años (Friedrichs et al., 2012).

2 HIPÓTESIS

Existe un efecto significativo de la variabilidad biológica sobre los intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno de los perros (*Canis lupus familiaris*) de la región de Los Lagos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Determinar los intervalos de referencia de la relación proteína fibrinógeno de perros (*Canis lupus familiaris*) adultos clínicamente sanos de la región de Los Lagos, Chile, durante el primer semestre del año 2024 en el laboratorio de análisis clínico y microbiológico del hospital clínico veterinario de la Universidad San Sebastián.

3.2 Objetivos específicos

- i. Caracterizar los datos obtenidos según variables fisiológicas, genéticas y ambientales.
- ii. Describir los valores de la relación proteína/fibrinógeno utilizando pruebas estadísticas que permitan determinar el tipo de distribución y la presencia de datos outliers.
- iii. Analizar las interacciones entre factores biológicos de los individuos, variables ambientales (alimentación) y genético (tamaño y sexo).
- iv. Calcular los parámetros asociados a los intervalos de referencia (límites inferior y superior, además de sus intervalos de confianza) de cada parámetro asociados a cada intervalo de referencia.

4 MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales:

- Jeringa 5 ML.
- Agujas 21G y 23G.
- Torniquete elástico.
- Tubo EDTA K2 0,5 mL.
- Alcohol 70%.
- Algodón.
- Cinta de papel adhesiva.
- Tubo de microhematocrito.
- Plasticina.
- Centrífuga EBA 20.
- Lector de micro hematocrito.
- Refractómetro.
- Calculadora.
- Hervidor.
- Termómetro.
- Tubos de ensayo.
- Guantes de nitrilo talla L.
- Máquina depiladora.
- Nevera portátil.
- Termómetro.
- Termómetro digital de cocina.
- Paquetes de gel refrigerante.

4.2 Diseño experimental.

Este proyecto es de tipo observacional, cuantitativo y transversal. Para esto, se recolectaron muestras de sangre venosa de perros (*Canis lupus familiaris*) adultos clínicamente sanos de la región de Los Lagos durante el primer semestre del año 2024 y se realizó su posterior análisis en el laboratorio, para poder medir y determinar los valores de referencia de la región.

Se determinaron los valores de proteínas totales y de fibrinógeno, aplicando la fórmula matemática de relación proteína/fibrinógeno para establecer los rangos mínimo y máximo de normalidad con pruebas estadísticas. Esto se realizó para los individuos según su sexo, tamaño y tipo de alimento.

Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Análisis Clínico y Microbiológico del HCV USS, sede de la Patagonia (Anexo 8).

4.3 Población y muestra.

El proyecto se realizó con la población de perros (*Canis lupus familiaris*) de la región de Los Lagos, compuesta por 60.374 individuos censados en el año 2019 (Subsecretaría de Desarrollo Regional y Administrativo 2021). Para la muestra, se utilizaron perros de edad adulta de diferentes tamaños y sexo, que se encontraban clínicamente sanos. Al tener un tamaño poblacional definido, se calculó la muestra con la fórmula de población finita (Aguilar, 2005).

$$n = \frac{N \times Z^2 \times p \times q}{d^2 \times (N - 1) + Z^2 \times p \times q}$$

Donde:

n = tamaño de la muestra.

N = tamaño de la población.

Z = nivel de confianza; valor de Z crítico calculado en las tablas del área de la curva normal.

p = proporción estimada de ocurrencia de un evento; si se desconoce se asume un valor de 50%.

q = proporción de la población referencia que no presenta el evento ($1 - p$); la suma de p y q siempre debe ser 1.

d = nivel de precisión o error aceptado.

Utilizando el tamaño poblacional de perros (*Canis lupus familiaris*) de la región, un valor de confianza del 95%, una ocurrencia de evento del 50% ya que se desconoce y un error del 5%, nos daría un valor de n o tamaño muestral mínimo de 382 individuos. Dependiendo del tamaño de la muestra y distribución de los valores de referencia (VR) obtenidos para los individuos, se determina el modelo estadístico a utilizar, paramétrico o no-paramétrico. Se recomienda un mínimo de 120 individuos para determinar los intervalos de referencia IR) mediante métodos no-paramétricos con un 90% de confianza (Friedrichs et al., 2012).

Se ha establecido que para establecer dispersiones de individuos sanos se puede utilizar un n compuesto al menos de 120 individuos de referencia utilizando métodos priori no-paramétricos (Geffré et al., 2009).

4.4 Criterios de inclusión.

Para la elección de los sujetos de muestra, se necesitaron aplicar ciertos criterios para unificar el universo de la muestra.

4.4.1 Criterio 1: Autorización del tutor.

Para la realización de este proyecto, al estar ligado al uso de pacientes vivos, se requirió que el participante, o en el caso de los animales de compañía, su tutor, estuviera de acuerdo con su participación. Para esto, se dispuso de un consentimiento que se entregó al tutor con la finalidad de informar y asegurar su autorización para la participación de su mascota en este estudio. A su confirmación, se tuvo una hoja donde el tutor debió llenar sus datos y los datos de su perro (Anexo 1). También se le hizo entrega de un documento que informó sobre lo relevante de este estudio (Anexo 2). Como beneficio para los participantes, se les dio la opción de conocer los resultados del estudio una vez concluido.

4.4.2 Criterio 2: Sano.

Las proteínas de fase aguda, como el fibrinógeno sufren alteraciones en procesos inflamatorios tanto fisiológicos como patológicos, en casos de enfermedades inflamatorias crónicas o agudas las proteínas de fase aguda pueden aumentar saliendo de los intervalos de referencia, o en casos de enfermedades que afecten la capacidad de producción hepática pueden llegar a disminuir su síntesis, ya que los hepatocitos o conocidas también como células hepáticas son las encargada de la producción y liberación del fibrinógeno (Urquiza et al., 2019).

Para garantizar que las muestras reflejaran adecuadamente la salud óptima del paciente, se desarrolló una lista de preguntas (Anexo 4) con el objetivo de obtener una anamnesis tanto actual como remota del paciente. Además, se realizó un examen clínico guiado por una lista de verificación (Anexo 3), que fue ejecutado por un médico veterinario.

4.4.3 Criterio 3: Edad.

Los perros sufren variaciones en sus concentraciones de proteínas plasmáticas de manera significativas durante sus distintas etapas de vida. En la edad de cachorros las concentraciones de proteínas plasmáticas son bajas aumentando progresivamente, alcanzando niveles normales en la edad adulta, cuando se pasa de la etapa adulta a la etapa geriátrica se observa una disminución gradual de la albúmina con un aumento de globulinas y proteínas de fase aguda como lo sería el fibrinógeno (Fraile, 2014).

Para este estudio, el rango de edad fue determinado por el tamaño del paciente según la altura de su alzada. Se determinó la alzada o altura de alzada midiendo la distancia máxima desde la planta de la pata delantera hasta el omoplato (AKC, s.f). Esta altura se utilizó como un estimador de talla para los diversos tamaños existentes de los perros (Silva et al., 2008).

Tabla 1: Determinación estimada de edad adulta en caninos según diferentes tallas, edades y alzada a la cruz

TALLA	ALZADA	EDAD ADULTA
Pequeño	< 35 cm	10 meses a 10 años
Mediano	35,1 a 43 cm	12 meses a 7 años
Grande	43,1 a 50 cm	1 año 3 meses a 5 años
Gigante	> 50,1 cm	1 año 5 meses a 5 años

Fuente: extraída y modificada de Agility measuring, AKC, s.f; Silva et al., 2008.

4.4.4 Criterio 4: Condición corporal.

La condición corporal es un sistema de puntuación que estima la grasa subcutánea del animal donde el puntaje medio es una condición corporal óptima (AlexLTW, 2022). La condición corporal óptima se determina mediante el examen físico del paciente donde se tienen que cumplir ciertos criterios, los cuales son: percibir a la palpación una fina cobertura de grasa sobre las costillas que a su vez son fácilmente palpables, también al inspeccionar de manera visual la región caudal a las costillas desde arriba, se aprecia

una cintura claramente definida. Además, desde la vista lateral, se evidencia un abdomen recogido (World Small Animal Veterinary Association, 2013; Paulí, 2021) (Anexo 5).

Animales con una condición corporal alta u obesos son predisponentes a padecer enfermedades como hígado graso y resistencia a la insulina, además, pueden presentar diferencias significativas en sus concentraciones de analitos como podría ser la albúmina, afectando los valores de las muestras tomadas del estudio (Ale y Masina, 2022).

4.4.5 Criterio 5: Vacuna.

Las vacunas están diseñadas para estimular el sistema inmune y ayudarlo a desarrollar una respuesta contra ciertas enfermedades. Las vacunas contienen antígenos inactivados o debilitados del patógeno causante de la enfermedad. Una vez en el organismo, el sistema inmune responde liberando células inmunitarias, lo que provoca un aumento en la línea blanca en respuesta. Sin embargo, las vacunas pueden causar reacciones adversas como fiebre o hipersensibilidad, lo cual puede generar un aumento en las inmunoglobulinas y proteínas de fase aguda, como el fibrinógeno, por la misma inflamación provocada en respuestas a estos procesos. Estas variaciones en analitos post vacunación son transitorias y tienden a durar desde días hasta semanas, dependiendo del individuo (Gutiérrez, 2010).

En Chile, la vacuna antirrábica es de uso obligatorio (Decreto 1, 2014), variando la marca según el laboratorio que la produce. Por ejemplo, el laboratorio Virbac ofrece las vacunas Rabigen y Rabigen mono, que proporcionan inmunidad contra el virus de la rabia durante 12 meses, requiriendo una revacunación posterior a este período (Rabigen s.f; Rabigen mono, s.f). El laboratorio MSD produce la vacuna Nobivac contra la rabia, con una inmunidad de 3 años tanto en perros como en gatos después de las 4 semanas post vacunación, periodo en el cual la vacuna desarrolla su efecto. Durante este período, la vacuna puede afectar las mediciones de los analitos debido a la alteración temporal de la línea blanca y algunas proteínas plasmáticas relacionadas a la inflamación, pero estos analitos se estabilizan después de las 4 semanas post vacunación (MSD, 2023). Los

individuos que no hayan pasado las 4 semanas post vacunación son excluidos del estudio.

La no vacunación no genera cambios de analitos, pero deja al individuo susceptible a enfermedades, que éstas sí podrían alterar los analitos. Por lo tanto, al recibir a un paciente no vacunado, es crucial asegurar un examen clínico completo para asegurar que se cumpla el criterio de paciente sano antes de aceptarlo para este estudio. Los individuos no vacunados que no presenten signos de enfermedad se consideran aptos para este estudio.

4.4.6 Criterio 6: Enfermedad periodontal.

La enfermedad periodontal (EP) es una condición influenciada por diversos factores, incluyendo patógenos, factores ambientales, conductuales, genéticos y sistémicos. Si bien la acumulación de placa bacteriana subgingival es un requisito necesario para desarrollar la EP, no es suficiente por sí sola. Los procesos destructivos que caracterizan el avance de esta enfermedad resultan de una respuesta inflamatoria. Esta respuesta inflamatoria es compleja y, aunque se comprenden algunos de los procesos involucrados, aún no se conocen completamente los mecanismos específicos que afectan su severidad y, por lo tanto, la susceptibilidad del individuo a desarrollar EP (Hardham et al., 2005).

La placa dental bacteriana es una película natural de bacterias que se acumula en la superficie de los dientes (Overmann, 2000). En la boca, existen más de 350 especies de bacterias conocidas, lo que indica que esta enfermedad no es causada por un solo tipo de bacteria. Estas se acumulan inicialmente en la superficie visible del diente (placa dental supragingival) y luego se propagan debajo de la encía (placa subgingival) (Loesche, 1988).

La placa dental subgingival desencadena una respuesta inflamatoria en la encía, dando lugar a la gingivitis. Las bacterias que se propagan bajo la encía pueden provocar

lesiones más profundas, como la destrucción de su mismo tejido, del ligamento periodontal y del hueso alveolar. Estas lesiones pueden resultar en la pérdida de la estabilidad dental, generando así el proceso de periodontitis (Hennet, 2006).

La gingivitis es una reacción inflamatoria de las encías, cuya presencia y grado se evalúa visualmente mediante el enrojecimiento e hinchazón en el borde de la encía, así como por la presencia de sangrado al manipularla. Se clasifica en una escala del 0 al 3, donde 0 indica ausencia de sangrado y 1 indica la presencia de sangrado en mayor o menor medida (Gorrel, 2013).

Grado 0	Gingiva clínicamente saludable
Grado 1	Gingivitis media: enrojecimiento y notable inflamación del surco gingival, no hay sangrado a la manipulación
Grado 2	Gingivitis moderada: Gingiva marginal roja e inflamada, con sangrado a la manipulación
Grado 3	Gingivitis severa: Gingiva marginal bastante inflamada, de coloración rojo intenso, con presencia de hemorragias espontaneas o ulceración de la Gingiva marginal

Fuente: Gorrel, 2013

Tabla 2: Grados de gingivitis.

La recesión gingival se mide utilizando una sonda periodontal, medimos la distancia en mm de la unión cemento-esmalte y la gingiva marginal libre. Ambas evaluaciones en conjunto determinaron el grado de la EP (Gorrel, 2013).

Grados de EP

- Grado I: Gingivitis sin pérdida de la unión, sólo aparece inflamada la gingiva, placa dentobacteriana.
- Grado II: Placa dentobacteriana, gingivitis, retracción gingival, <25%
- Grado III: Cálculo dental, gingivitis, retracción gingival de 25-50%, movilidad de piezas dentales.
- Grado IV: Cálculo dental, gingivitis, retracción gingival >50%, movilidad de piezas dentales, visualización de raíces dentales, pérdida de piezas dentales, formación de fistulas o absceso.

Fuente: Bellows, 2007

La EP es una enfermedad inflamatoria de las encías y los tejidos que rodean los dientes. Es causada por la acumulación de placa bacteriana en los dientes. Esta ha sido relacionada con una serie de enfermedades sistémicas, incluyendo cardiopatías, enfermedad renal y alteraciones neurológicas, además la investigación ha demostrado que existe una correlación positiva entre la severidad de la EP y los cambios histológicos observados en los órganos internos de los perros. Por ejemplo, los perros con EP severa pueden tener cambios a nivel histopatológico en los tejidos cardiacos, pulmonares, renales y hepáticos (Debowes y col, 1996).

Los cambios en los analitos que pueden estar asociados con la EP incluyen: aumento de la proteína C reactiva (PCR), aumento de la velocidad de sedimentación globular (VSG), aumento de los niveles de leucocitos y aumento de los niveles de enzimas hepáticas, Estos cambios pueden ser un signo de inflamación sistémica asociado a una EP en un estado avanzado, por lo cual, pacientes con un estado avanzado de EP no serán aptos para participar en este estudio.

4.4.7 Criterio 7: Gestación y lactancia.

Durante la gestación existen cambios fisiológicos, como el aumento de proteínas de fase aguda de la inflamación y de factores de coagulación esto debido a que el organismo se prepara para una posible hemorragia en el parto o en el postparto, este aumento también se ve acompañado de la disminución de la activación del sistema fibrinolítico, logrando así un mayor aumento de fibrinógeno en sangre (Sixto y Cruz, 2010). En la lactancia el individuo genera un aumento fisiológico en algunas proteínas plasmáticas, como las albúmina e inmunoglobulinas con el fin de la producción de calostro, las inmunoglobulinas ayudarán a entregarle inmunidad pasiva a la cría (Morales, 2016). Las hembras que se encuentren en gestación o lactancia se excluyeron del estudio ya que sus parámetros sanguíneos se encontrarán alterados.

4.5 Lista criterios de inclusión.

- El tutor es mayor de edad (mayor a 18 años), aceptó y firmó el consentimiento informado (anexo 1)
- El paciente está dentro del rango etario establecido.
- El paciente se encuentra en condición corporal óptima (3 de 5).
- El paciente demuestra buen temperamento (ausencia de agresividad y comportamiento tranquilo durante el examen clínico).
- El estudio incluirá perros adultos de ambos sexos, de cualquier raza y tamaño que cumplan con los antecedentes de clínicamente sano.

4.6 Lista criterios de exclusión.

- El tutor no es mayor de 18 años o no acepta participar en la investigación.
- Pacientes que estén recibiendo algún tratamiento farmacológico.
- Pacientes que presenten patologías preexistentes.

- Pacientes con comportamiento agresivo que impida la extracción de muestra de sangre.
- El paciente no cumple con los requisitos del examen clínico se ser clínicamente sano (anexo 2).
- Pacientes en etapas de alteraciones fisiológicas (ej. preñez, lactancia, proestro (fase de líquido sanguinolento), estro o celo propiamente tal (Edward, 2000).
- Pacientes que se encuentran en un estado de estrés notable.
- Perros que no estén dentro del rango etario propuesto.
- Perros que no cumplan con la condición corporal óptima.
- Perros vacunados hace un tiempo menor a 30 días.

4.7 Obtención de la muestra.

Para la obtención de la sangre venosa en caninos podemos disponer de 3 puntos de extracción, vena cefálica, yugular y safena. Para este estudio se utilizó la vena cefálica ya que es de fácil acceso, mejorando así la comodidad tanto del operador como del paciente, disminuyendo su estrés durante el proceso. La vena cefálica se sitúa en el tercio superior del antebrazo paralelo a la arteria cubita con una ligera lateralidad respecto al radio. El paciente se posicionará en decúbito prono, con su miembro anterior izquierdo o derecho extendido hacia el médico veterinario, se necesitó que un asistente sujete al paciente desde la cabeza y el miembro anterior utilizado, la sujeción del miembro deberá no solo evitar el movimiento indebido del sujeto de muestra (Figura 1), sino que también debió ingurgitar la vena para facilitar la toma de muestra El miembro debió estar previamente depilado y desinfectado con alcohol 70° para evitar contaminación en la zona a puncionar (Tepán, 2017).

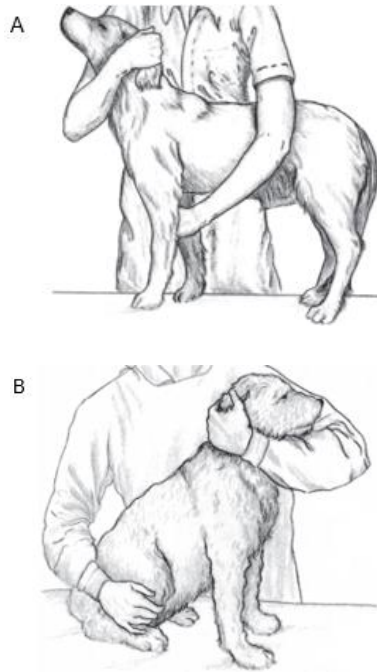


Figura 1. Contención de un perro en estación (A) y sentado (B).

Fuente: “Contención de perros y gatos”, de C. Osborne, en J. Boyle (Ed.), Crow & Walshaw’s Manual de procedimientos clínicos en perros, gatos, conejos y roedores (4ª ed., pp. 5-6), 2017, Multimédica ediciones veterinarias.

4.7.1 Jeringa.

Al utilizar la jeringa para la obtención de muestra sanguínea en caninos, era crucial evitar crear un vacío violento durante la extracción para prevenir la hemólisis de la muestra. Además, al transferir la muestra desde la jeringa al tubo de recolección seleccionado, era importante retirar la aguja correctamente, ya que su presencia podía también provocar hemólisis (Quiroz y Bouda, 2007). Este procedimiento cuidadoso aseguraba la integridad de la muestra para análisis posterior.

4.7.2 Elección de aguja.

La elección de la aguja dependía del tamaño del paciente a muestrear. Los tamaños estándar para perros variaban entre 21 a 23 G, utilizando la aguja de 23 G para razas más pequeñas y de 21 G para las razas más grandes. Una elección inadecuada del calibre podía derivar en una mayor predisposición del paciente a desarrollar hematomas y en la posibilidad de que la muestra presentara hemólisis (Quiroz y Bouda, 2007).

4.7.3 Tubo de muestra.

El tubo de muestra utilizado sería el que contiene Ácido etilendiaminotetraacético, también conocido como tubo EDTA, el cual inhibe la coagulación in vitro (Wittwer, 2019). Existen tres variantes de este tubo según su composición salina: EDTAK2, EDTAK3 y EDTANa. Para este estudio se utilizará la variante K2, o dipotásica, debido a que provoca una menor deshidratación celular en comparación con el EDTAK3 y presenta una mejor solubilidad en sangre en comparación con el EDTANa (Goedelmann et al., 2018).

La duración de la muestra en el tubo EDTA dependerá de su temperatura de refrigeración, que debe mantenerse en un rango de 4 a 8 grados Celsius. A esta temperatura, la muestra puede conservarse durante un período de hasta 24 horas (Martí et al., 2014).

4.8 Control de la toma de muestra.

Para garantizar una ejecución adecuada y el seguimiento de los procesos durante la toma de muestra, se disponía de un checklist (Anexo 6), el cual debía ser completado para cada paciente

4.9 Transporte de la muestra.

La muestra debía ser procesada lo antes posible, sin exceder las 24 horas a temperatura de refrigeración o 4 horas sin refrigeración (Martí et al., 2014). Para el traslado al lugar de análisis, se utilizó una caja de transporte con bolsas de frío en su interior para mantener la muestra a temperatura de refrigeración (Arauz et al., 2020).

4.10 Análisis de la muestra.

El análisis de las muestras se realizó de manera manual en el laboratorio de la Universidad San Sebastián Escuela de Medicina Veterinaria sede de la Patagonia, mediante métodos de cuantificación utilizando hematocrito y refractómetro.

4.10.1 Hematocrito.

Con la muestra previamente tomada, se realizó un hematocrito. Para ello, se debió homogeneizar la muestra. Utilizando un tubo capilar de micro hematocrito, se recolectó un porcentaje de la muestra posicionándola dentro del tubo de EDTA de manera horizontal. Por capilaridad, el microhematocrito se llenó gradualmente hasta alcanzar aproximadamente tres cuartas partes de su capacidad. Debió mantenerse en posición horizontal mientras se limpió el exterior con una toalla de papel. Después de este paso, se selló el microhematocrito con plasticina en uno de sus extremos. Una vez sellado, se centrifugó a 12000 revoluciones por minuto durante 5 minutos. Tras la centrifugación, el microhematocrito se separó en capas (Figura 2. Figura 3), la zona roja se denominó hematocrito o Volumen glomerular acumulado (VGA), que corresponde a los glóbulos rojos, una zona blanca que está compuesta por glóbulos blancos y plaquetas, mientras que la última zona será el plasma (Caro Pino Vet. a, 2021; ProfePoncho, 2021).

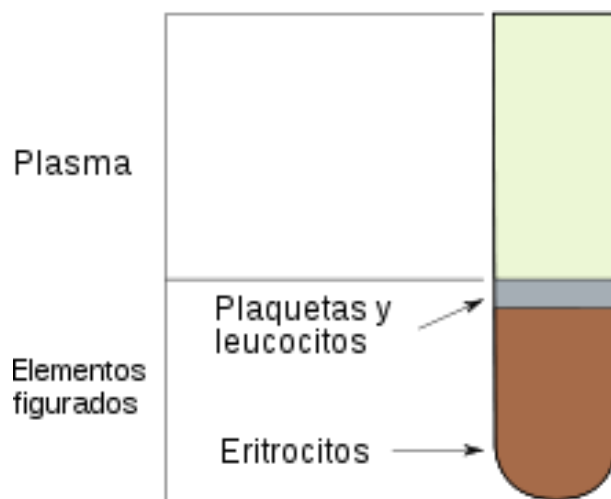


Figura 2. Esquema de los componentes del hematocrito posterior a la centrifugación.

Fuente: “Volumen normal de los componentes sanguíneos” (Hematocrito, 2023).

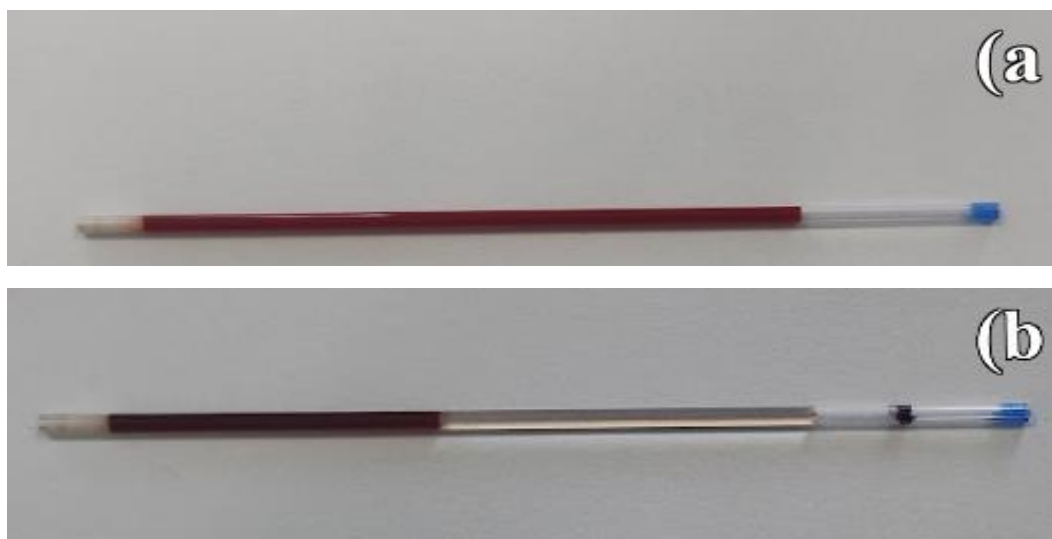


Figura 3. Hematocrito pre-centrifugado (a) y hematocrito post-centrifugado (b).

Fuente: Elaboración propia

4.10.2 Medición de fibrinógeno.

Para medir el fibrinógeno, se debió emplear el método de precipitación por calor. En este procedimiento, se colocó agua a 58 C° en un vaso precipitado siguiendo la temperatura con un termómetro para posterior introducir el hematocrito con la plastilina apuntando hacia la base del vaso precipitado (Figura 4), se debió asegurar que la zona de plasma estuviera completamente cubierta por el agua, pero que el extremo abierto se encontrara fuera de esta y que no se introdujera agua por este extremo, este proceso de baño maría debe durar 5 minutos. Posteriormente, se volvió a centrifugar durante 5 minutos a 12000 revoluciones por minuto, después de este proceso, se obtuvo una capa blanca aún más extensa. Para realizar la medición, se colocó el hematocrito en un lector de microhematocrito, posicionando la parte final del hematocrito en el 0. Se midió la extensión de la capa blanca, y luego se midió la distancia hasta donde termina el plasma de la misma manera (Figura 5). Con los resultados de ambas mediciones, se realizó una división de la medida de la capa blanca entre la medida del plasma. El resultado se multiplica por 100, proporcionando así el valor del fibrinógeno expresado en gramos por litro (Caro Pino Vet, b, 2021; Diaz, 2016).

$$\frac{\text{Fibrinogeno}}{\text{plasma}} \times 100$$

Fuente: Elaboración propia.

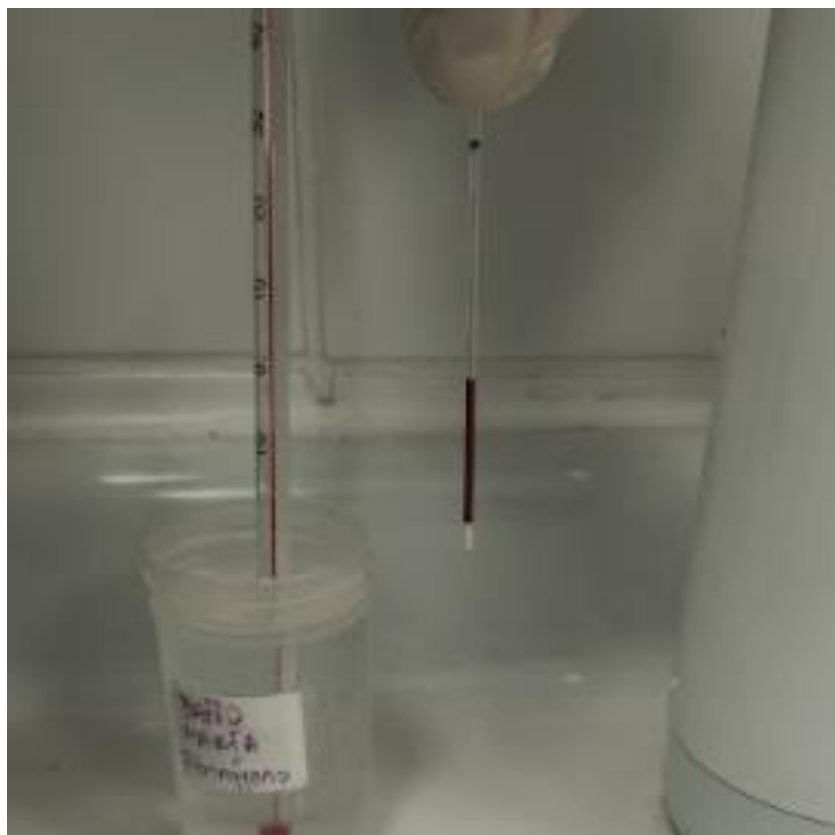


Figura 4. Posición correcta del hematocrito en el baño María.

Fuente: Elaboración propia.

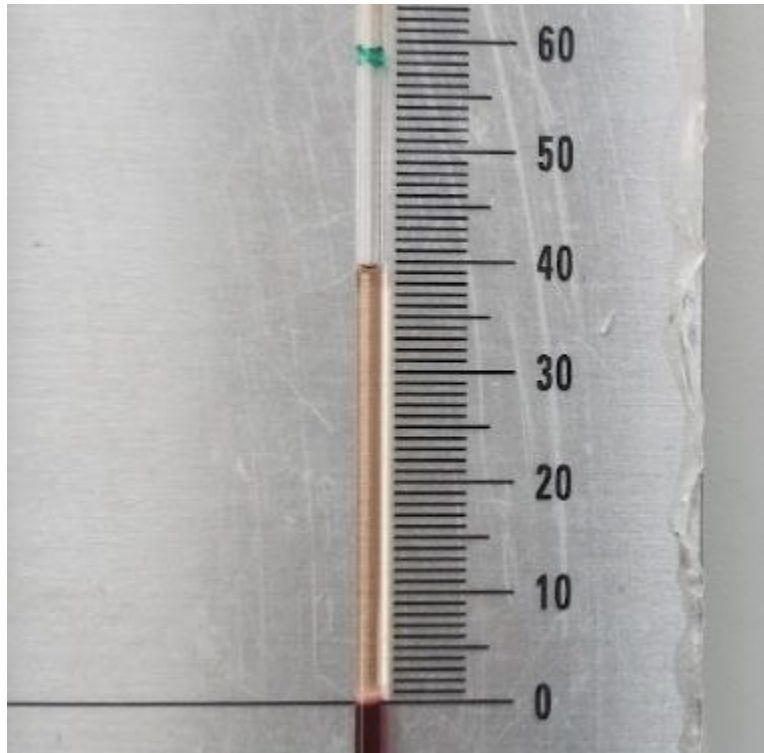


Figura 5. Medición de fibrinógeno post-baño María y centrifugado.

Fuente: Elaboración propia.

4.10.3 Medición de proteínas plasmáticas totales.

Para medir las proteínas plasmáticas, se empleó un tubo de microhematocrito previamente procesado. Se realizó un corte en la zona del plasma (Figura 6), permitiendo que unas gotas del contenido del plasma cayeran sobre la cámara de un refractómetro (Figura 7). Al cerrar la cámara la gota se expandió lo que facilitó la observación a través del ocular del refractómetro, se debió utilizar la medida posicionada más a la izquierda para evaluar la diferencia de color (Figura 8 Figura 9). Esta medida proporcionó los resultados en gramos por 100 ml. Sin embargo, para adecuarla a los rangos de referencia de la medicina veterinaria, se debió convertir este valor a gramos por litro, esto se logró multiplicando el valor dado por el refractómetro en 10 para así llevarlo a gramos/litro (Caro Pino Vet, c, 2021; Mosquera, 2021).



Figura 6. Lugar y corte del hematocrito.

Fuente: Elaboración propia.



Figura 7. Gotas en la cámara del refractómetro.

Fuente: Elaboración propia.

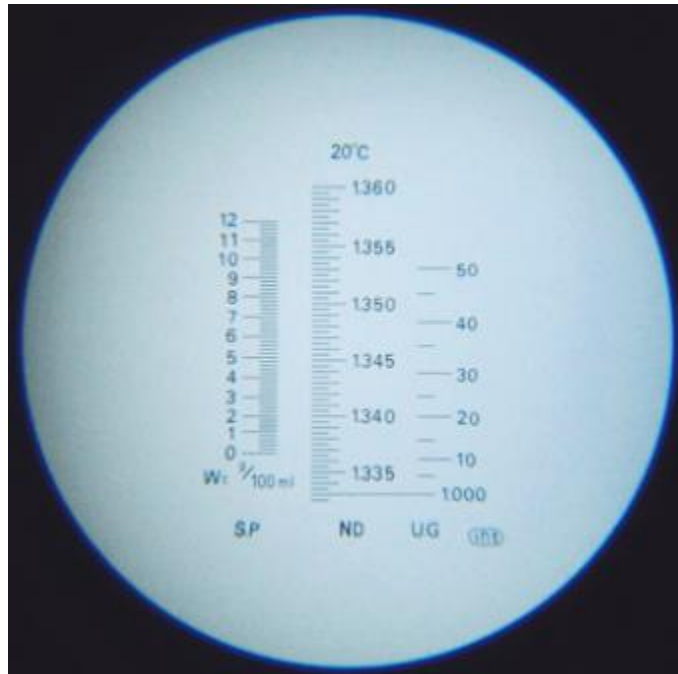


Figura 8. Escalas de medida de un refractómetro.

Fuente: Extraído de *“El uso del refractómetro en el Laboratorio Clínico Veterinario”*, por Rodríguez, J. 2021.

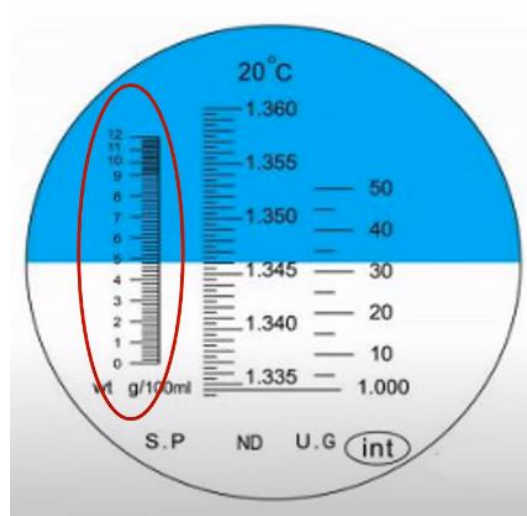


Figura 9. Diferencia de color en las medidas del refractometro.

Fuente: Como obtener el valor de proteínas plasmáticas (Caro pino vet, 2021).

4.11 Cálculo de relación proteína/fibrinógeno.

Al tener los valores de las proteínas plasmáticas totales y de fibrinógeno se realizó la ecuación de relación, la cual es una diferencia entre las proteínas plasmáticas y fibrinógeno dando el total de las proteínas séricas las cuales posteriormente se dividieron en la cantidad de fibrinógeno (Mollinedo, 2004; Wittwer y Chihuilaf, 2021).

$$\frac{\text{Poteínas plasmáticas totales} - \text{fibrinógeno}}{\text{fibrinógeno}} = \text{Relacion proteína/fibrinógeno}$$

4.12 Control de procesamiento de muestra.

Para cuidar que el procesamiento de la muestra se haya respetado y tuviera un control de seguimiento y así garantizar su buena ejecución se dispuso de una lista de cotejo (Anexo 7) la cual se debió rellenar por cada muestra a procesada.

4.13 Método de análisis estadístico.

Para establecer intervalos de referencia se debió definir el tipo de distribución que tuvieron los datos, paramétricos utilizando medias, o no-paramétricos utilizando logaritmos o percentiles (Wittwer, 2021). Los métodos de análisis para determinar IR suelen depender de la distribución de los valores de referencia (VR), por lo que esta debió ser evaluada mediante la observación de un histograma y confirmada con una prueba de bondad de ajuste, si se utilizaron métodos paramétricos cuando la distribución no es normal, la distribución de los datos debió ser normalizada con un método apropiado para poder utilizarla correctamente. Cuando no se pudo demostrar normalidad, no se pudieron utilizar métodos paramétricos para establecer IR, en esos casos se utilizaron métodos no

paramétricos (Friedrichs et al., 2012). Para realizar estas mediciones estadísticas se utilizó el programa R Studio que es un modelo de programación estadística.

4.14 Método de medias o paramétricos.

Los datos paramétricos presentan el 95% de los valores de la población dentro del intervalo definido. Se define con una media ± 2 desviaciones estándar, el 5% restante se distribuye desde las 2 desviaciones estándar hacia los extremos (Wittwer, 2021).

4.14.1 Media:

La media aritmética corresponde al cálculo del promedio simple de un acumulado de datos. Para diferenciar datos de muestra, de datos poblacionales, la media aritmética se representa con un símbolo para cada uno de ellos. La diferencia en sus fórmulas radica en el tamaño de los datos donde N identifica el tamaño de la población, mientras que n identifica el de la muestra obtenida (Rodríguez et al., 2020).

4.14.2 Desviación estándar:

Con la media obtenida se utilizó la fórmula de la desviación estándar para agregar a la media 2 desviaciones estándar a la derecha y a la izquierda. La desviación estándar es una medida estadística que indica qué tan dispersos o agrupados están un conjunto de datos en relación con su media o promedio, una desviación estándar baja indica que la mayoría de los datos están cerca de la media, mientras que una desviación estándar alta indica que los datos están más dispersos alrededor de la media (Ortega, 2023). La fórmula de desviación estándar se define como:

$$S = \sqrt{\frac{(X - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

donde:

S: es la desviación estándar.

X: cada valor individual del conjunto de datos

$\bar{X}$: media del conjunto de datos

n: número total de observaciones.

4.14.3 Análisis de Shapiro-Wilk:

Es un método estadístico que permite comprobar la distribución que sigue un conjunto de datos, si poseen distribución normal o no a través de pruebas estadísticas (Mishra et al., 2019).

4.14.4 Comparación de medias T Student:

Es un método estadístico que permite comprobar o rechazar una hipótesis al comparar las medias entre 2 grupos, y determinar si su diferencia es estadísticamente significativa. Para ello, las variables deben ser dependientes, continuas y tener una distribución normal. La prueba t pareada permite comparar las medias de dos mediciones de un mismo grupo muestral (Mishra et al., 2019).

4.14.5 Análisis de varianza ANOVA:

En el caso de que los datos tengan una distribución normal y los datos se agrupen en 3 o más grupos se utilizará el análisis ANOVA de pruebas paramétricas en donde se permite analizar la variabilidad de una variable continua aleatoria en condiciones

definidas por variables de clasificación, además, se utiliza para ver si existen diferencias significativas entre los grupos. Se pueden realizar pruebas adicionales para identificar en qué grupos existen diferencias (Dagnino, 2014).

4.15 Método de logaritmos no-paramétricos.

Los métodos no paramétricos logarítmicos se utilizan cuando los datos no siguen una distribución normal. En estos casos, es común normalizar los datos aplicando el logaritmo a las observaciones, esto establece una variable no normal a una normal, lo que permite utilizar el método de medias de manera más efectiva (Wittwer, 2021).

4.15.1 Prueba Kruskal-Wallis:

En el caso de que los datos de 3 o más grupos no posean una distribución normal se utilizará la prueba no-paramétrica Kruskal-Wallis que se define como una prueba que no requiere de supuestos de normalidad y/o de homocedasticidad a diferencia del análisis de varianza (ANOVA). Se utiliza para comparar tres o más grupos independientes y uno de los criterios que se requiere para esta prueba es ordenar los valores obtenidos de forma ascendente, agrupándolos y asignando rango menor y mayor, para identificar si existen diferencias significativas (Cabral y Lucena, 2020; Unguryanu y Grjibovski, 2014).

4.15.2 Prueba U Mann-Whitney:

En el caso de que los datos de 2 grupos no posean una distribución normal se utilizará la prueba no-paramétrica U Mann-Whitney que se define como una prueba que no requiere de supuestos de normalidad y/o de homocedasticidad a diferencia del análisis de varianza T-Student (Cabral y Lucena, 2020; Unguryanu y Grjibovski, 2014).

5 RESULTADOS

5.1 Totalidad de muestras obtenidas y válidas.

El total de muestras alcanzadas para este estudio fueron de un total de 157 (100%) superando el n mínimo de 120 establecido por Friedrichs en el año 2012, de este total fueron excluidas del estudio 12 muestras (8%), las cuales se encontraban en estado de coagulación dando un total final de 145 (92%) muestras válidas para este estudio (Figura 10).

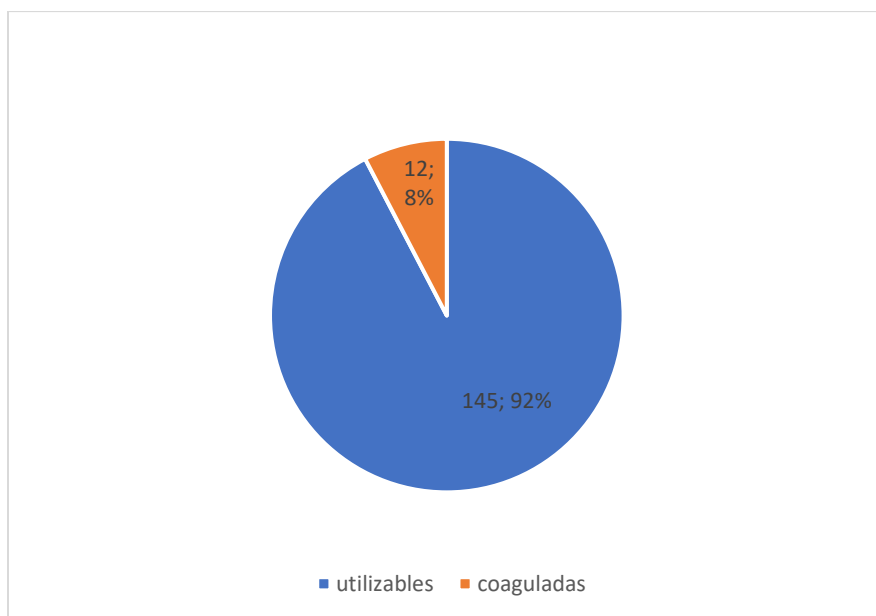


Figura 10. Distribución porcentual de muestras válidas para realizar este estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia.

5.2 Diferenciación de muestras por sexo de los individuos y estado reproductivo.

De las 145 muestras válidas para el estudio 84 (58%) de estas fueron tomadas de hembras y 61 (42%) de machos (Figura 11), siendo la mayor concentración de muestras

provenientes de hembras caninas. Dentro del total de muestras válidas 124 (86%) se clasifican como individuos esterilizados y 21 (14%) como individuos enteros (Figura 12).

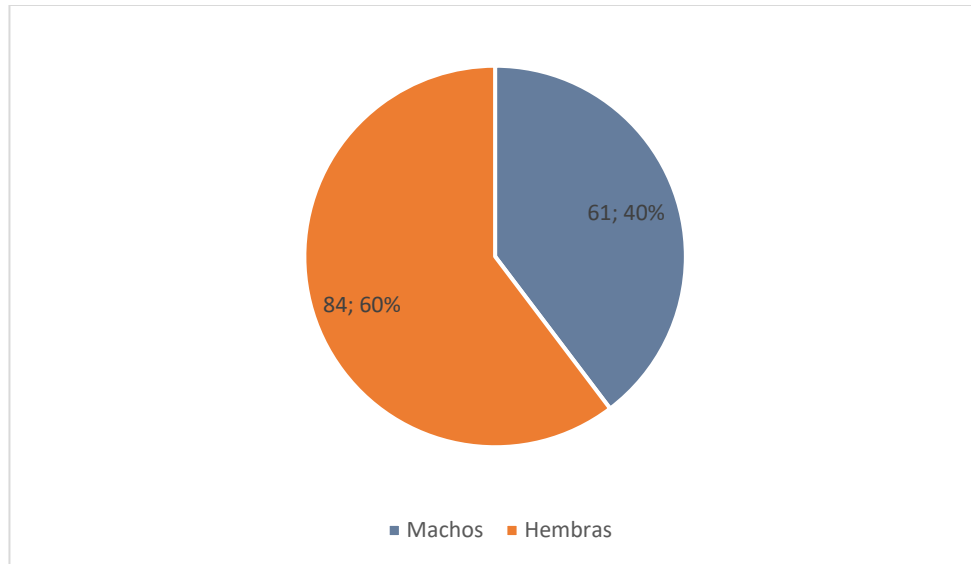


Figura 11. Distribución porcentual según sexo de los individuos muestreados para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia.

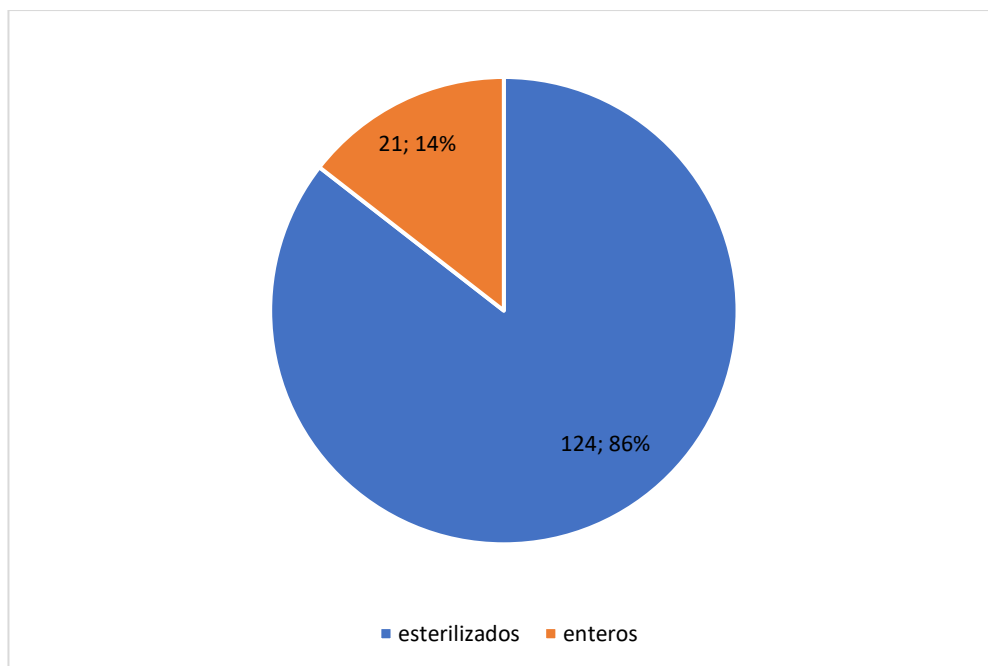


Figura 12. Distribución porcentual según estado reproductivo de los individuos muestreados para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia.

Dentro del total de hembras solo 5 (6%) se clasifican como hembras enteras y 79 (94%) como esterilizadas, en cambio en el total de machos solo 16 (26%) se clasifican como enteros y 45 (74%) como esterilizados (Figura 13).

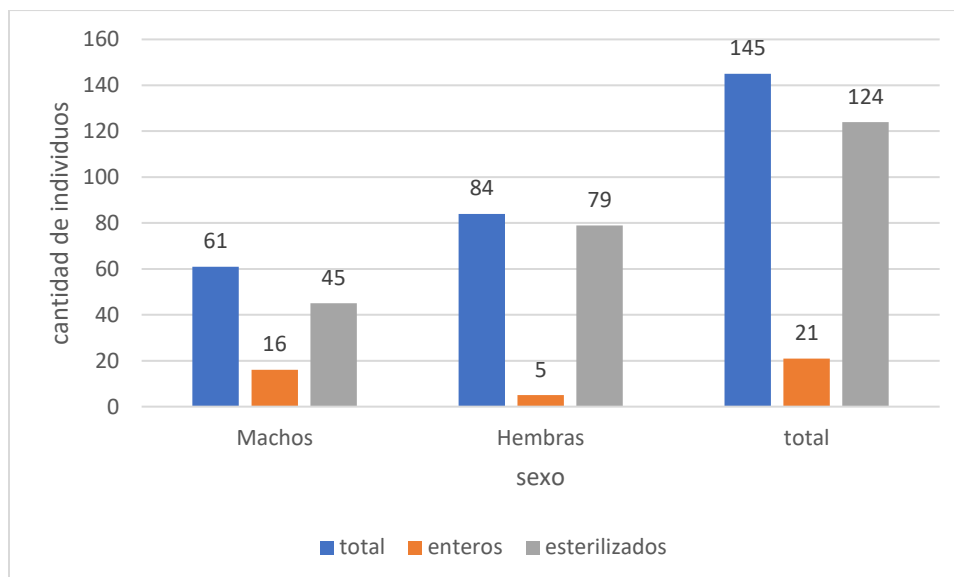


Figura 13. Gráfico según estado reproductivo y sexo de los individuos muestreados para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia.

5.3 Talla de los individuos y representación por sexos.

De las 145 muestras válidas, según clasificación de talla propuesta por la AKC (Tabla 1), se encontraron que 39 individuos (27%) corresponden a talla pequeña, 52 (36%) a talla mediana, 35 (24%) a talla grande, 19 (13%) a talla gigante. De lo anterior se observa una mayor concentración de perros corresponde a raza mediana, también se observa que en las tallas pequeña y medianas la mayor concentración corresponden a hembras, mientras que, en las tallas grandes y gigantes, su mayor concentración corresponde a machos (Figura 14).

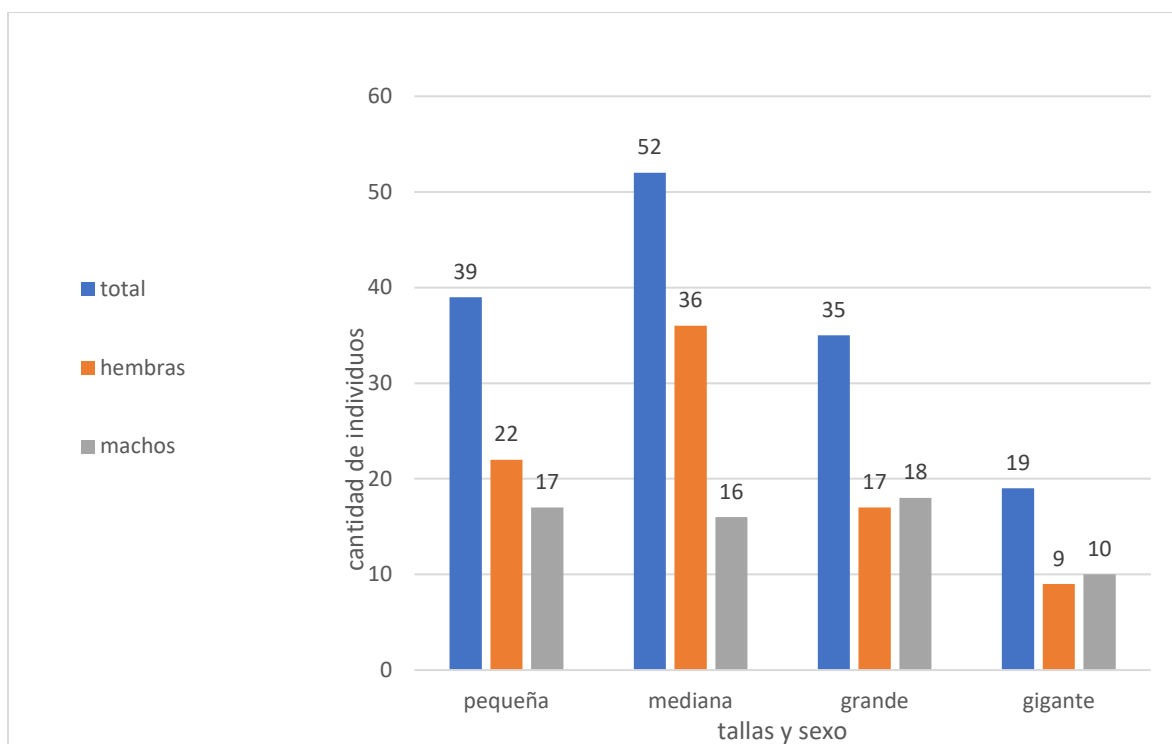


Figura 14. Gráfico según tallas y sexo en cantidad de los individuos muestreados para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia.

5.4 Consumo y calidad de los alimentos.

De las 145 muestras válidas, según clasificación del tipo de alimento propuesta por el SERNAC según su calidad, 31 perros (21%) consumen dieta estándar, 75 (52%) premium, 26 (18%) super premium, 4 (3%) casero y 9 (6%) alimentación mixta (Figura 15), se observa que dentro de las clasificaciones establecidas los alimentos premium son los más consumidos en relación al resto, siendo un 52% los que se engloban en esta clasificación, a su vez también se observa que los alimentos caseros y mixtos en conjunto solo alcanzan a ser el 9% de los individuos totales.

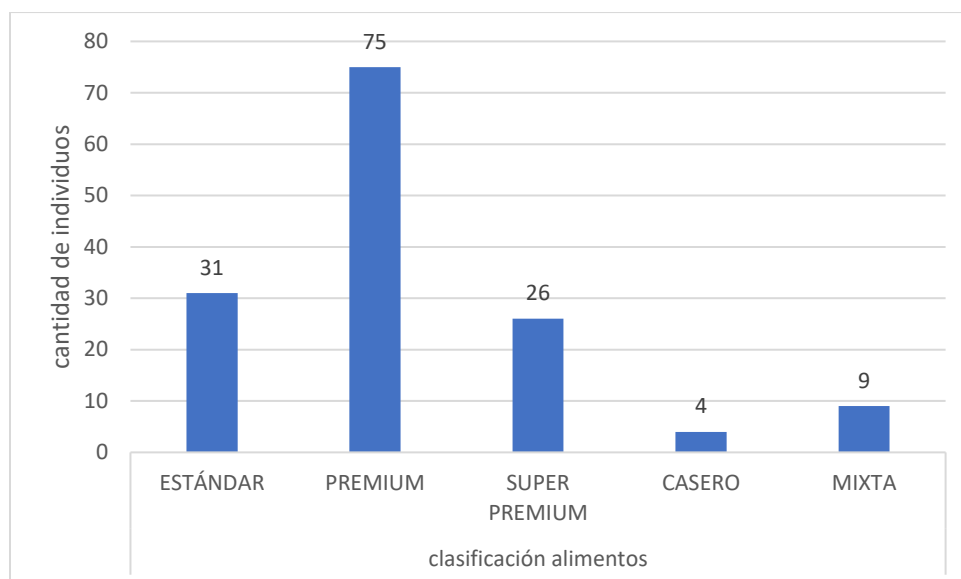


Figura 15. Gráfico según calidad alimentos en cantidad de los individuos muestreados para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia.

5.5 Análisis de analitos.

Respecto al análisis de las muestras se grafican los parámetros de media, moda, mediana y desviación estándar junto con el valor máximo y mínimo de cada analito (Figura 16).

Respecto a las proteínas totales las muestras alcanzaron un valor mínimo de 21 y un valor máximo de 95, con una media 62, moda 63 y una mediana de 64, la desviación estándar calculada corresponde a 11.

Respecto a los valores obtenidos de fibrinógeno, se obtuvo un valor mínimo de 1 y un máximo de 9, con una media 4 y una moda y mediana de 3, su desviación estándar calculada fue de 2.

Respecto a la relación proteína/fibrinógeno se obtuvo un valor mínimo de 7 y una máxima de 68, siendo la media de 18, con una moda 21 y una mediana 16, su desviación estándar calculada fue de 10.

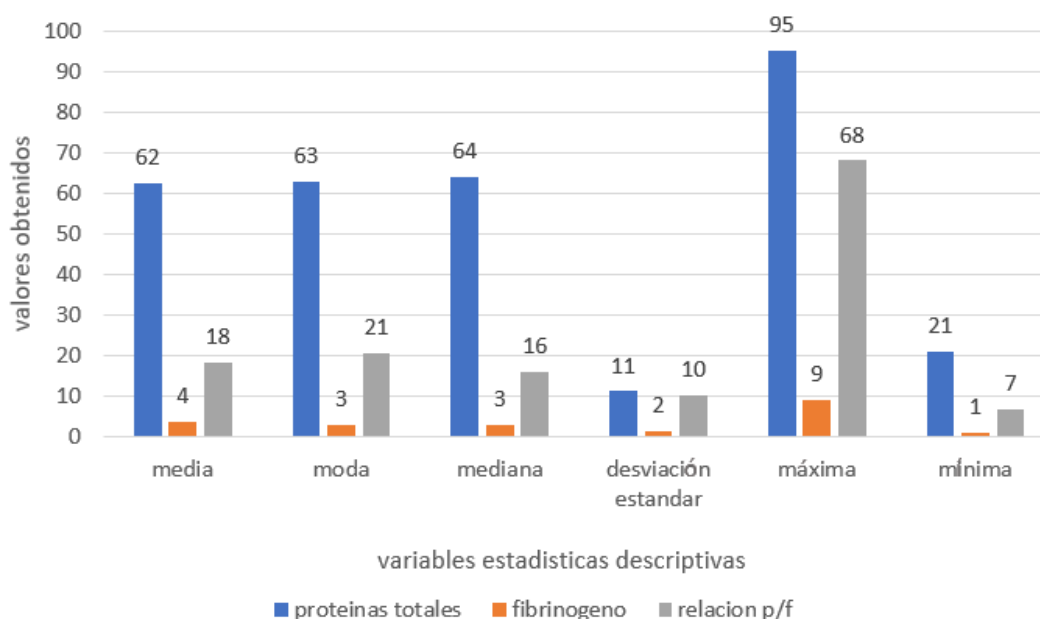


Figura 16. Gráfico de variables descriptivas estadísticas de analitos para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia.

5.6 Análisis de analitos por variables fisiológicas y ambientales.

Para analizar los analitos según variable fisiológica y ambiental, se utilizó modelos de cajas y bigotes por analito y variable, en el cual se pudieran visualizar los outliers y eliminarlos como se representa con las proteínas totales según el sexo de los individuos en la figura 17 y 18, los outliers son valores atípicos que se encuentran significativamente alejados del rango intercuartílico de los datos y estos pueden interferir en las medias estadísticas como a la interpretación de los datos.

Para cada analito se trabajó con pruebas estadísticas como la prueba de Shapiro-Wilks para observar si los datos poseen distribución normal o no y también se realizaron pruebas para determinar si existen diferencias entre las variables fisiológicas respecto a los analitos, como la prueba de T-Student para datos paramétricos y prueba de U Mann-Whitney para datos no paramétricos que tengan 2 variables como sexo y esterilización, y para parámetros con 3 o más variables como talla o alimento se utilizó la prueba de ANOVA si los datos son paramétrico y Kruskal-Wallis si los datos no son paramétricos. Estas pruebas trabajan con un p-valor el cual si es menor a 0,05 se rechazarían en caso de la prueba de Shapiro-Wilks que los datos sigan distribución normal y en el caso de T-Student o ANOVA se rechazaría que los datos no tengan diferencias.

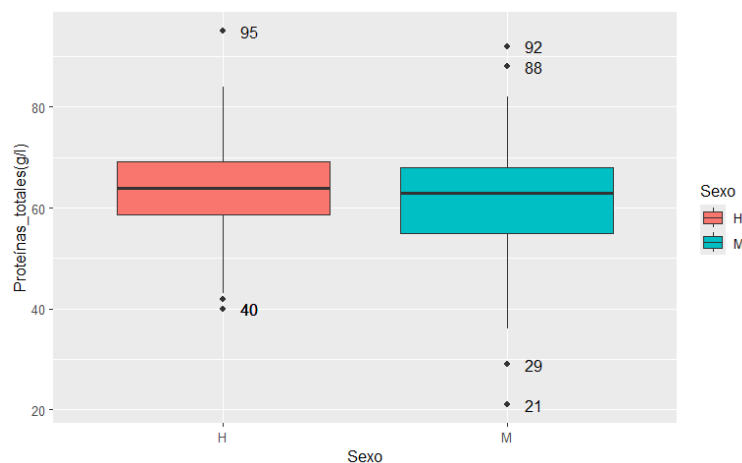


Figura 17. Diagrama de cajas y bigotes según proteínas totales por sexo de los individuos muestreados, con outliers. para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia.

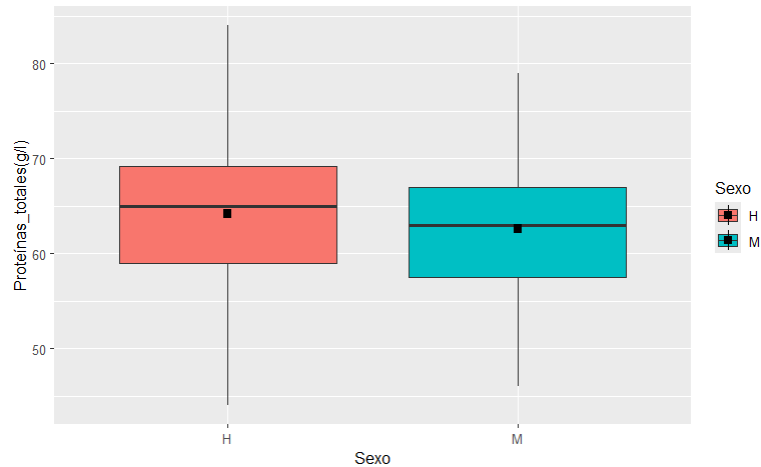


Figura 18. Diagrama de cajas y bigotes según proteínas totales por sexo de los individuos muestreados, sin outliers. Para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia.

5.6.1 Análisis de analitos según sexo.

Respecto a las proteínas la prueba Shapiro-Wilk arrojó un p-valor de 0.2688, por lo cual se acepta que los datos siguen una distribución normal. También se desarrolló un qqPlot con el cual se puede visualizar la distribución normal que tienen los datos (Figura 19), la prueba T-Student con un nivel de confianza del 95% arrojó un p-valor de 0.2757, con esto podemos decir que no existe diferencia entre sexos respecto a las proteínas totales.

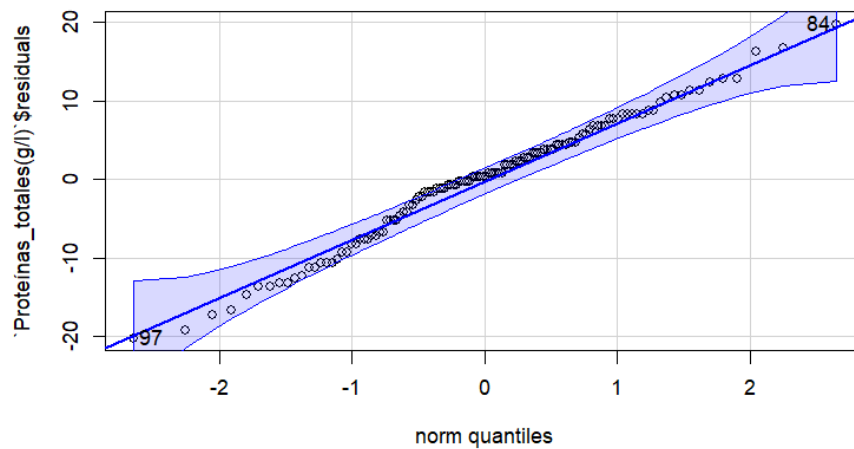


Figura 19. Distribución normal según qqPlot de proteínas según sexo para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia.

Respecto al fibrinógeno la prueba Shapiro-Wilk arrojó un p-valor de 4.186e-07, por lo cual se rechaza que los datos sigan una distribución normal. También se desarrolló un qqPlot con el cual se puede visualizar la distribución sin normalidad que tienen los datos (Figura 20), la prueba U Mann-Whitney con un nivel de confianza del 95% arrojó un p-valor de 0.8311, con esto podemos decir que no existe diferencia entre sexos respecto al fibrinógeno.

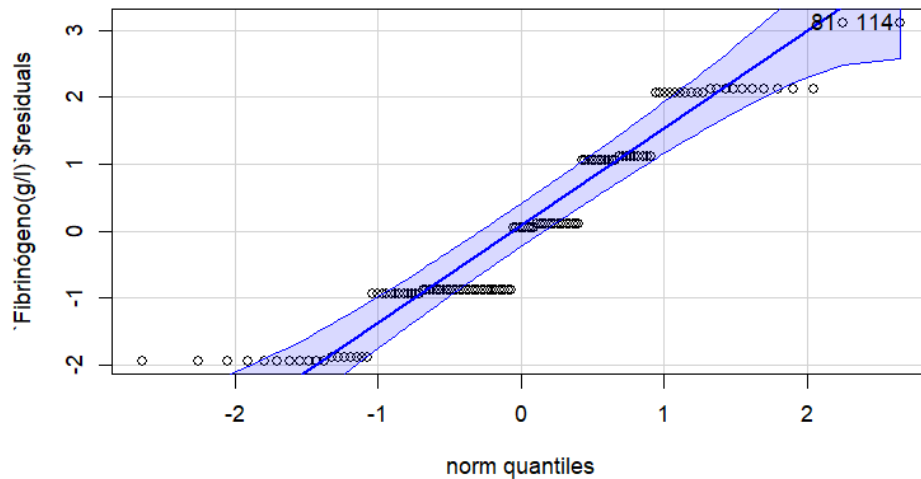


Figura 20. Distribución sin normalidad según qqPlot de fibrinógeno según sexo para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos

Fuente: Elaboración propia.

Respecto a la relación proteína/fibrinógeno la prueba Shapiro-Wilk arrojó un p-valor de $5.345e-05$, por lo cual se rechaza que los datos sigan una distribución normal. También se desarrolló un qqPlot con el cual se puede visualizar la distribución sin normalidad que tienen los datos (Figura 21), la prueba U Mann-Whitney con un nivel de confianza del 95% arrojó un p-valor de 0.8728, con esto podemos decir que no existe diferencia entre sexos respecto a la relación proteína/fibrinógeno.

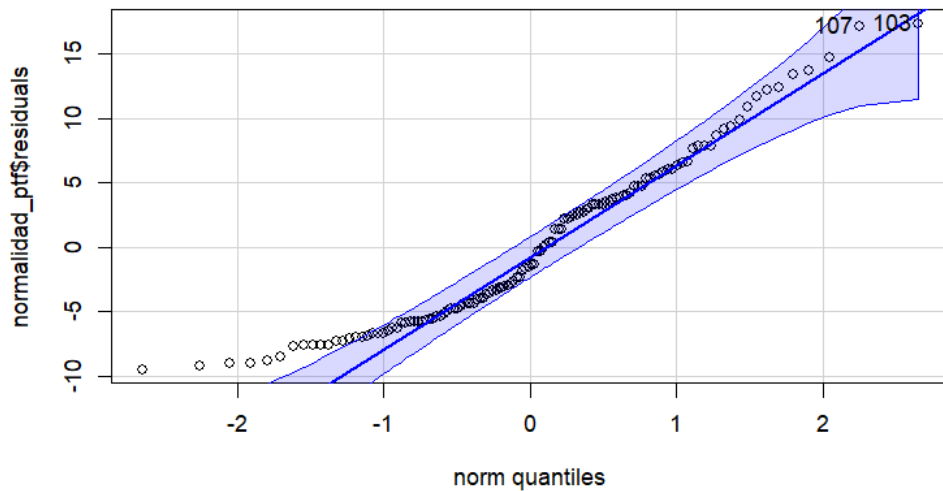


Figura 21. Distribución sin normalidad según qqPlot de relación proteína/fibrinógeno según sexo para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia.

5.6.2 Análisis de analitos según estado reproductivo.

Respecto a las proteínas la prueba Shapiro-Wilk arrojó un p-valor de 0.2432, por lo cual se acepta que los datos siguen una distribución normal. También se desarrolló un qqPlot con el cual se puede visualizar la distribución que tienen los datos (Figura 22), la prueba T-Student con un nivel de confianza del 95% arrojó un p-valor de 0.9939, con esto podemos decir que no existe diferencia entre estados reproductivos respecto a las proteínas.

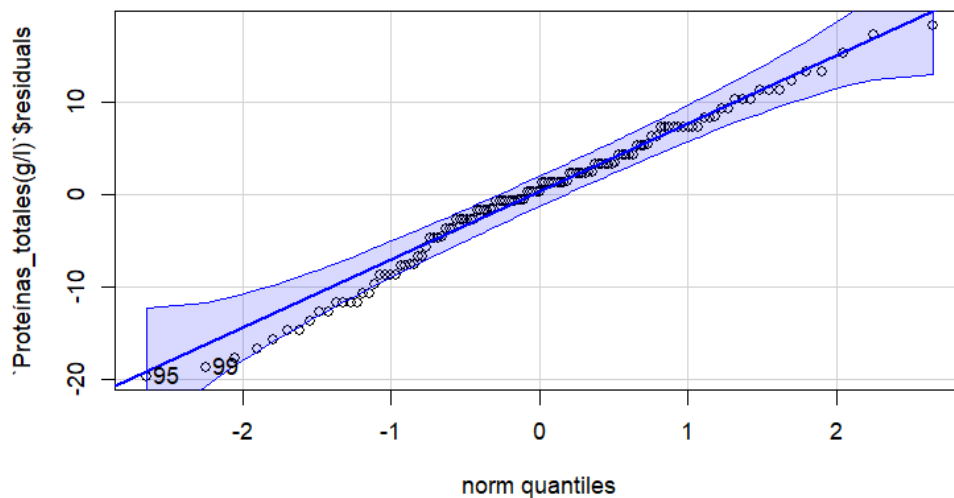


Figura 22. Distribución normal según qqPlot de proteínas con relación a estado reproductivo. para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia.

Respecto al fibrinógeno la prueba Shapiro-Wilk arrojó un p-valor de 2.645×10^{-6} , por lo cual se rechaza que los datos sigan una distribución normal. También se desarrolló un qqPlot con el cual se puede visualizar la distribución que tienen los datos (Figura 23), la prueba U Mann-Whitney con un nivel de confianza del 95% arrojó un p-valor de 0.2428, con esto podemos decir que no existe diferencia entre estados reproductivos respecto al fibrinógeno.

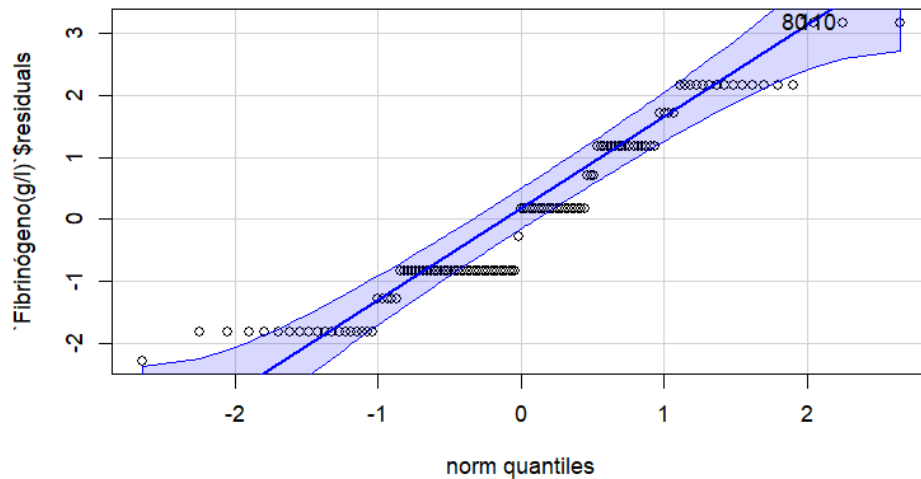


Figura 23. Distribución sin normalidad según qqPlot de fibrinógeno según estado reproductivo para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia.

Respecto a la relación proteína/fibrinógeno la prueba Shapiro-Wilk arrojó un p-valor de 3.239×10^{-5} , por lo cual se rechaza que los datos sigan una distribución normal. También se desarrolló un qqPlot con el cual se puede visualizar la distribución sin normalidad que tienen los datos (Figura 24), la prueba U Mann-Whitney con un nivel de confianza del 95% arrojó un p-valor de 0.2633, con esto podemos decir que no existe diferencia entre estados reproductivos respecto a la relación proteína/fibrinógeno.

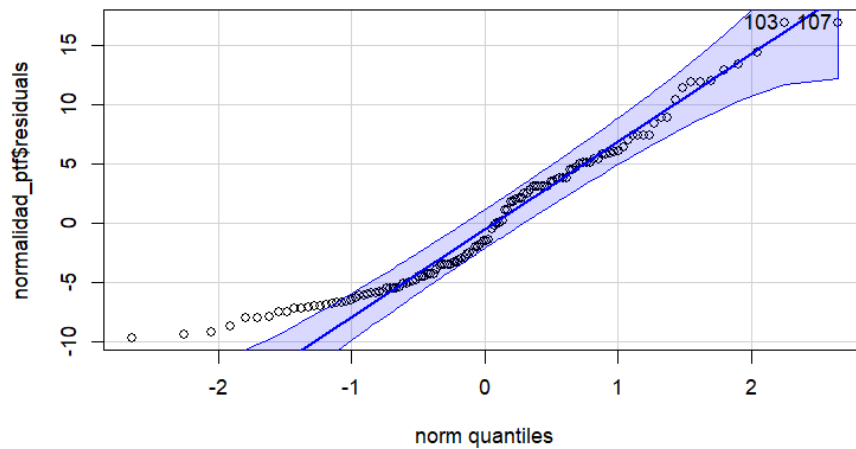


Figura 24. Distribución sin normalidad según qqPlot de la ecuación proteína/fibrinógeno según estado reproductivo para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia.

5.6.3 Análisis de analitos según talla.

Respecto a las proteínas la prueba Shapiro-Wilk arrojó un p-valor de 0.1758, por lo cual se acepta que los datos siguen una distribución normal. También se desarrolló un qqPlot con el cual se puede visualizar la distribución normal que tienen los datos (Figura 25), la prueba ANOVA con un nivel de confianza del 95% arrojó un p-valor de 1.9057, con esto podemos decir que no existe diferencia entre tallas respecto a las proteínas totales.

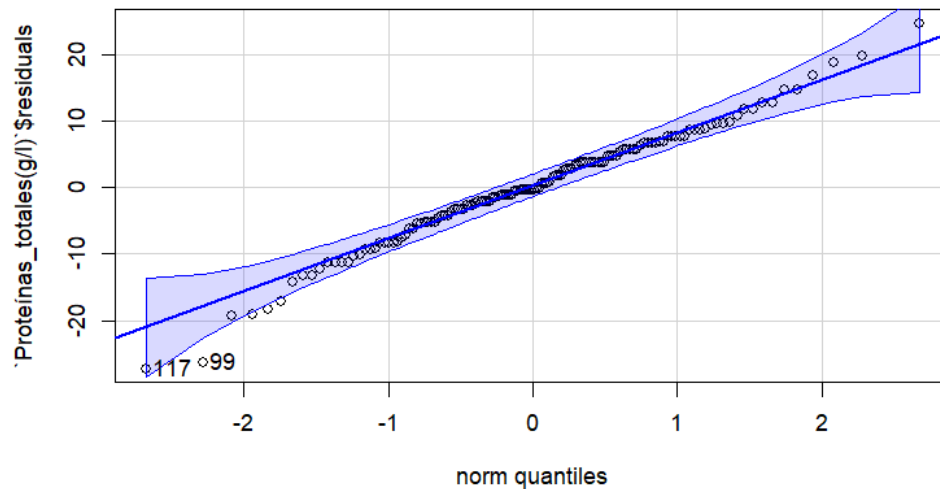


Figura 25. Distribución normal según qqPlot de proteínas según talla para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia.

Respecto al fibrinógeno la prueba Shapiro-Wilk arrojó un p-valor de 0.0009686, por lo cual se rechaza que los datos sigan una distribución normal. También se desarrolló un qqPlot con el cual se puede visualizar la distribución normal que tienen los datos (Figura 26), la prueba Kruskal-Wallis con un nivel de confianza del 95% arrojó un p-valor de 1.8393, con esto podemos decir que no existe diferencia entre tallas respecto al fibrinógeno.

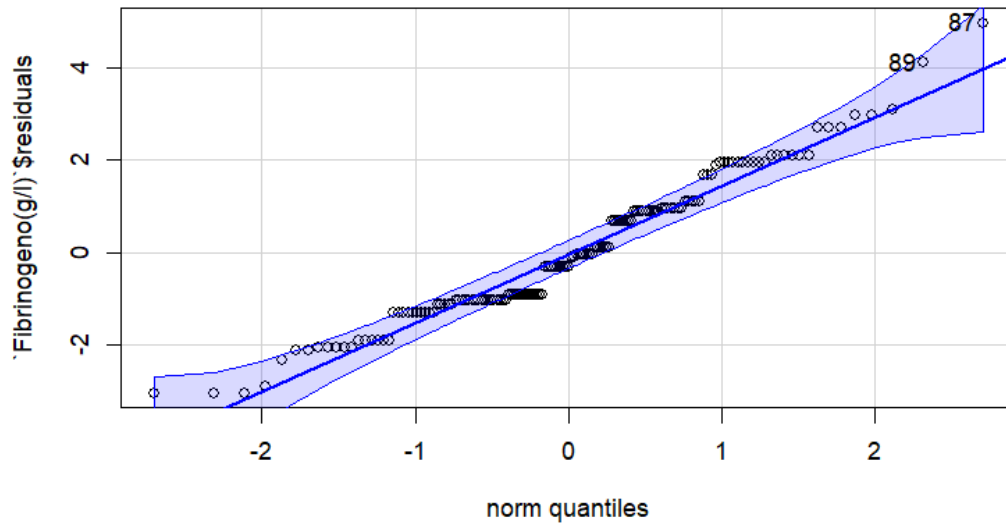


Figura 26. Distribución sin normalidad según qqPlot de fibrinógeno en relación según talla para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia.

Respecto a la relación proteína/fibrinógeno la prueba Shapiro-Wilk arrojó un p-valor de 2.122×10^{-5} , por lo cual se rechaza que los datos sigan una distribución normal. También se desarrolló un qqPlot con el cual se puede visualizar la distribución sin normalidad que tienen los datos (Figura 27), la prueba Kruskal-Wallis con un nivel de confianza del 95% arrojó un p-valor de 1.8688, con esto podemos decir que no existe diferencia entre tallas respecto a la relación proteína/fibrinógeno.

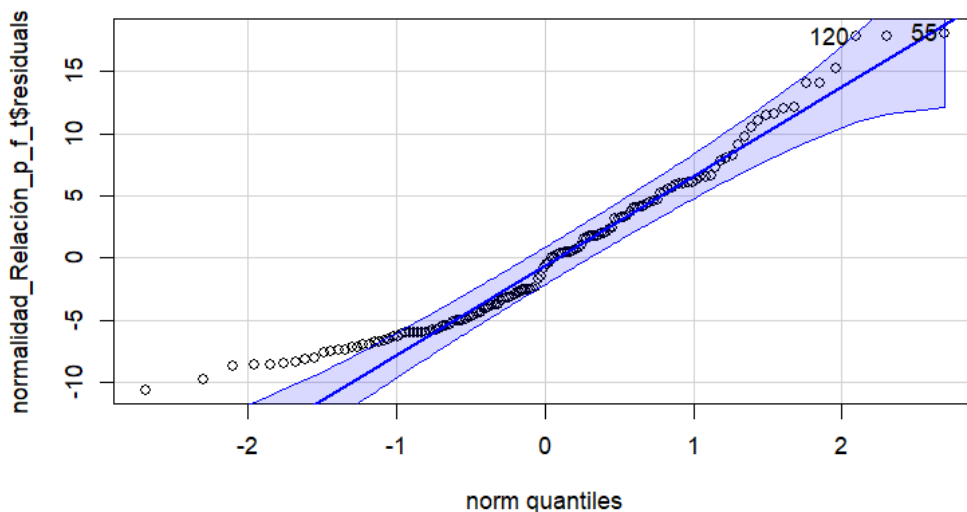


Figura 27. Distribución sin normalidad según qqPlot de la ecuación relación proteína/fibrinógeno según talla de los individuos para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos

Fuente: Elaboración propia.

5.6.4 Análisis de analitos según alimentación de los individuos.

Respecto a las proteínas la prueba Shapiro-Wilk arrojó un p-valor de 0.6753, por lo cual se acepta que los datos sigan una distribución normal. También se desarrolló un qqPlot con el cual se puede visualizar la distribución normal que tienen los datos (Figura 28), la prueba ANOVA con un nivel de confianza del 95% arrojó un p-valor de 0.1052, con esto podemos decir que no existe diferencia entre alimentación respecto a las proteínas totales.

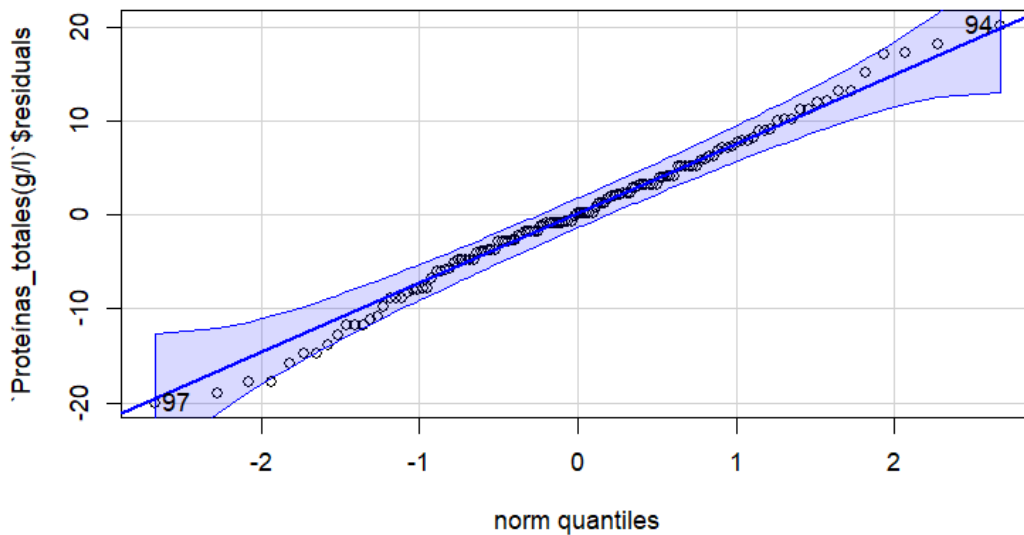


Figura 28. Distribución normal según qqPlot de proteínas según alimentación para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia

Respecto al fibrinógeno la prueba Shapiro-Wilk arrojó un p-valor de 0.016, por lo cual se rechaza que los datos sigan una distribución normal. También se desarrolló un qqPlot con el cual se puede visualizar la distribución sin normalidad que tienen los datos (Figura 29), la prueba Kruskal-Wallis con un nivel de confianza del 95% arrojó un p-valor de 0.01367, con esto podemos decir que existen diferencias entre alimentación respecto al fibrinógeno.

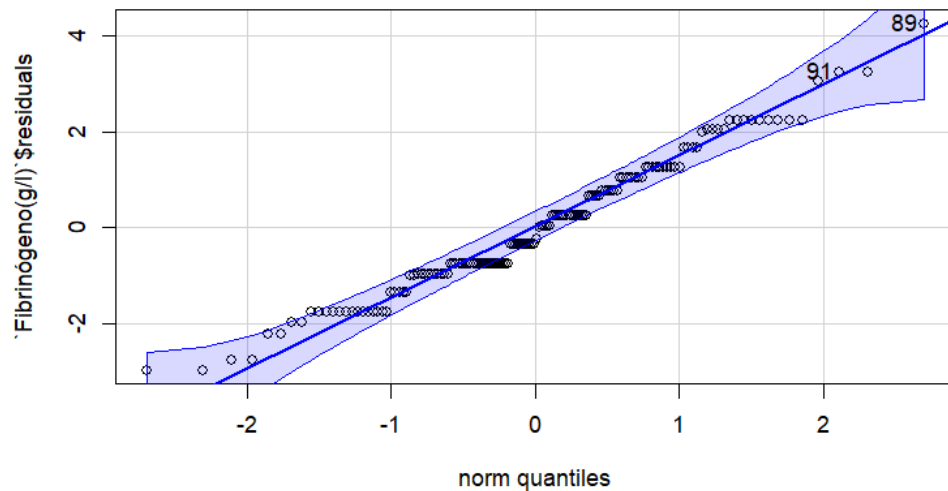


Figura 29. Distribución sin normalidad según qqPlot de fibrinógeno según alimentación de los individuos para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia.

Respecto a la relación proteína/fibrinógeno la prueba Shapiro-Wilk arrojó un p-valor de 0.004302, por lo cual se rechaza que los datos sigan una distribución normal. También se desarrolló un qqPlot con el cual se puede visualizar la distribución sin normalidad que tienen los datos (Figura 30), la prueba Kruskal-Wallis con un nivel de confianza del 95% arrojó un p-valor de 0.01243, con esto podemos decir que existe diferencia entre alimentación respecto a la relación proteína/fibrinógeno.

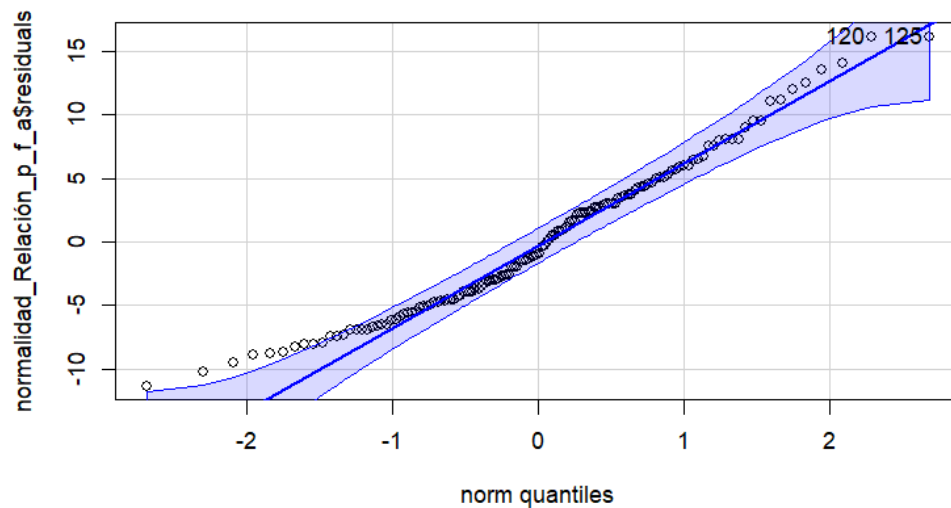


Figura 30. Distribución sin normalidad según qqPlot de la ecuación relación proteína/fibrinógeno según alimentación de los individuos para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia.

Respecto a las diferencias en los analitos sobre la alimentación se encontró que estaba dada por los individuos que consumían dietas caseras y mixtas, sumando un total de 13 muestras, pero este al ser un pool de datos no representativo, se decidió excluir del estudio. Una vez excluidos no se encontraron diferencias estadísticas en relación con alimentación con los analitos de este estudio, utilizando un n muestral final de 132 individuos.

5.7 Intervalos de analito.

Una vez quitado los outliers y comprobar si existen diferencias entre los analitos y si siguen una distribución normal se elaboraron sus respectivos intervalos con modelos aplicables a su distribución.

5.7.1 Intervalos de proteínas totales.

Los valores arrojados para proteínas sin los outliers fueron de un valor mínimo de 36.00 y un máximo de 84, con una media de 64 y moda de 62, con su 1º cuartil de 57 y su 3º cuartil de 69. Con estos datos se elaboró una campana de Gauss para visualizar su distribución (Figura 31).

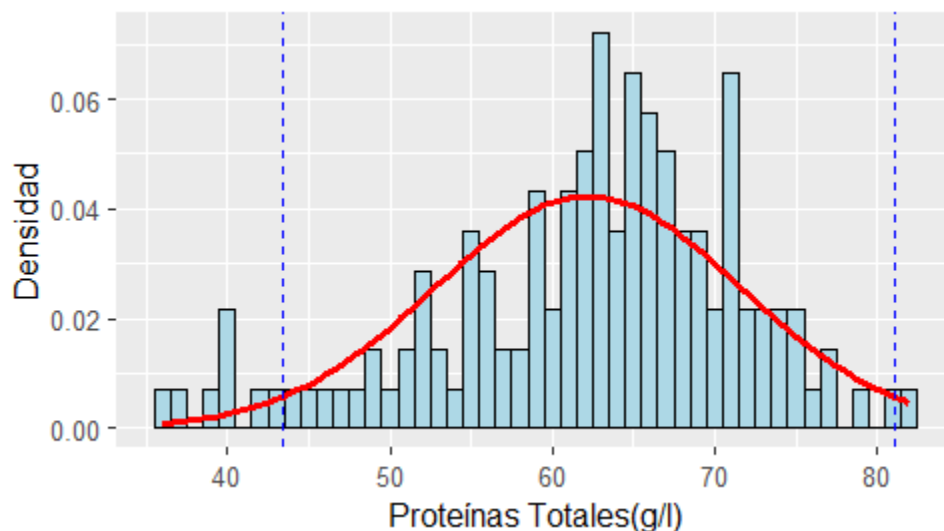


Figura 31. Campana de gauss de distribución de proteínas totales para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia.

5.7.2 Intervalos de fibrinógeno.

Los valores arrojados para fibrinógeno sin los outliers fueron de un valor mínimo de 1 y un máximo de 7, con una media de 3 y moda de 4, con su 1º cuartil de 3 y su 3º cuartil de 5. Con estos datos se elaboró una campana de Gauss para visualizar su distribución (Figura 32).

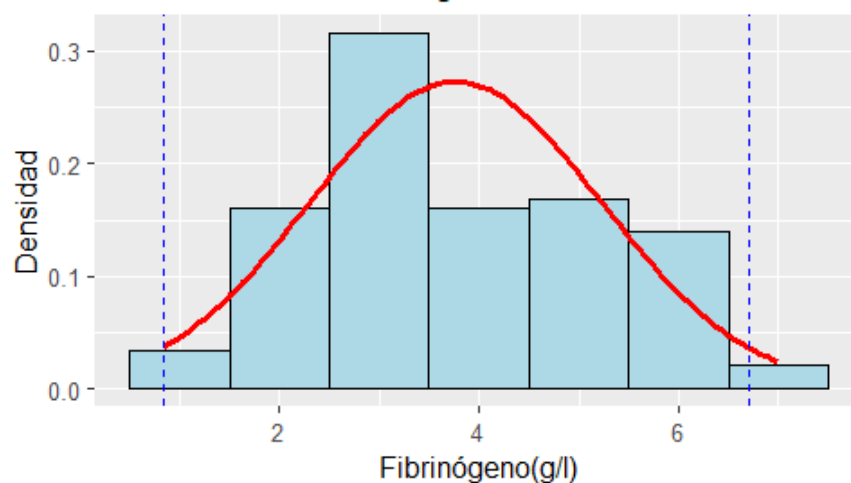


Figura 32. Campana de gauss de distribución de fibrinógeno para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia.

5.7.3 Intervalos de relación proteína/fibrinógeno.

Los valores arrojados para la relación proteína/fibrinógeno sin los outliers fueron de un valor mínimo de 7 y un máximo de 37, con una media de 15 y moda de 17, con su 1º cuartil de 11 y su 3º cuartil de 21. Sabiendo que la relación proteína/fibrinógeno no sigue una distribución normal se realizó un modelo de densidad para visualizar su distribución (Figura 33).

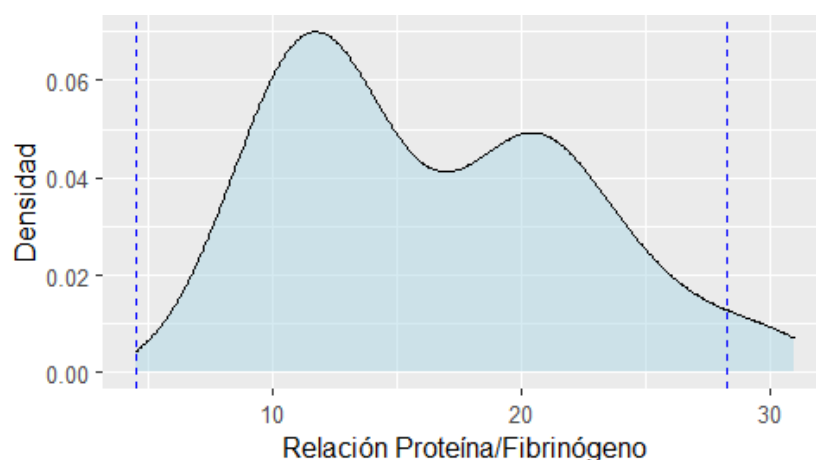


Figura 32. Modelo de densidad de la relación proteína/fibrinógeno para el estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos.

Fuente: Elaboración propia.

5.7.4 Intervalos de referencia de los analitos del estudio

Utilizando la función de intervalos de referencia del programa R Studio, se estableció con una confianza del 90% los siguientes intervalos de referencias para los analitos de este estudio con sus respectivos intervalos de confianza (Tabla 1).

ANALITO	Límite inferior	Límite superior	Intervalos de confianza inferior		Intervalos de confianza superior	
Fibrinógeno	1 (g/l)	6 (g/l)	0.88 (g/l)	1.57 (g/l)	6.24 (g/l)	6.93 (g/l)
Proteínas totales	48 (g/l)	80 (g/l)	45,73 (g/l)	49.73 (g/l)	76.9 (g/l)	80.9 (g/l)
Relación Proteína/Fibrinógeno	5 (g/l)	28 (g/l)	3.96 (g/l)	6.2 (g/l)	28.16 (g/L)	31.39 (g/l)

Tabla 3. Intervalos de referencia de los analitos del estudio de determinación de intervalos de referencia relación proteína/fibrinógeno durante el primer semestre del año 2024 en la región de Los Lagos

Fuente: Elaboración propia.

6 DISCUSIÓN

En este estudio, se evaluó el impacto de variables fisiológicas, genéticas y ambientales en los analitos bioquímicos de proteínas totales, fibrinógeno y relación proteína/fibrinógeno, donde en la variable sexo con un grupo compuesto de 84 hembras y 61 machos no se encontró ninguna diferencia en los analitos respecto a esta variable. Mundim et al. (2007), en su estudio sobre cómo el sexo y la edad influyen en los analitos bioquímicos de perros dóberman, se evalúa un grupo compuesto de 42 machos y 90 hembras, donde se aceptó la hipótesis que el sexo sí es una variable que influya en los valores de analitos bioquímicos, esta diferencia puede explicarse ya que no solo se utilizaron a pacientes adultos en el estudio de Mundim et al. (2007) Sino que perros desde los 2 a 36 meses de edad, sabiendo esto es entendible que existan variaciones ya que los perros logran estabilizar sus valores bioquímicos y hematológicos hasta la edad adulta (Fraile, 2014).

Según Merizalde (2011), que en su estudio evalúa los parámetros de proteínas totales de 300 perros, donde en un grupo de 144 hembras, 156 machos, no se encontraron diferencias significativas entre sexos en los valores arrojados en sus analitos de proteínas totales donde tanto en hembras como en machos dieron una media de 65 g/l, estos resultados comparados con los de mi estudio concuerdan que no existen diferencias significativas en el sexo de los individuos utilizando un método de Bootstrap para visualizar diferencias entre los resultados de Merizalde (2011) con los de este estudio).

Autores como Connolly et al. (2019) en su estudio donde evalúa parámetros bioquímicos de 4804 perros especializados en el deporte de trineo, compuesto por 1868 hembras y 2936 machos encontraron diferencias entre sexos, específicamente las proteínas totales eran 1.3% más bajas en hembras en relación con machos. Respecto al estudio de Connolly et al. (2019), pero comparadas con las de este estudio utilizando un método Bootstrap con el programa R no se observaron diferencias significativas con los valores de este estudio. Las variaciones que se encontraron en el estudio de Connolly et

al. (2019) pueden ser explicadas por el pool de datos de su estudio, que consistieron en perros de trineo de categoría elite, que son perros de deporte los cuales pasan por entrenamientos exigentes desde temprana edad, los cuales podrían experimentar variaciones bioquímicas distintas en comparación con perros de compañía que no están expuestos a esfuerzos físicos tan demandantes como lo explica en su estudio.

En este estudio se contó con 124 individuos esterilizados, 21 individuos enteros donde no se encontraron diferencias significativas en relación a ningún analito respecto al estado reproductivo de los individuos, pero el estudio de Chang et al. (2016) en su estudio donde evalúa diferencias fisiológicas como lo sería individuos esterilizados y enteros, donde trabajo con 2047 individuos esterilizados y 998 individuos enteros, se observaron variaciones en las proteínas séricas donde los pacientes enteros tienen un leve aumento 0,5 g/l en relación a los pacientes, pero según estadística no presentaron diferencias significativas, también se realizó una prueba Bootstrap con la cual se estableció que sus resultados no tienen diferencias con los de este estudio. Por otro lado, el estudio de Chang et al. (2016) incluyó pacientes en diferentes estados de desarrollo, lo cual es crucial dado que los analitos bioquímicos pueden variar significativamente según la etapa fisiológica de los individuos. En contraste, nuestro estudio se centró exclusivamente en pacientes adultos para el análisis de los datos.

Respecto a la variable de talla, en nuestro estudio conto con 39 individuos pequeños, 52 medianos, 35 grandes, 19 gigantes, donde no se encontraron diferencias significativas en los analitos analizados en relación a esta variable, estudios como el de Merizalde (2011) donde se observó que todas las variables de talla compartían la misma media de 65 g/l en el analito de proteínas totales, similar a este estudio donde la media fue de 64 g/l, también evidenciando que no tienen diferencias entre tallas, aunque este estudio utilizó un modelo de clasificación de tallas en relación a peso de los individuos y no una clasificación con relación a la altura a la cruz como es la utilizada en este estudio, para establecer que no existen diferencias entre este estudio y el Merizalde (2011) se utilizó un método Bootstrap que arrojo no existen diferencias entre lo establecido por el autor y este estudio.

La investigación de Miglio et al. (2020), que evaluó perfiles bioquímicos en 5 diferentes razas de perros de caza, no encontró diferencia a nivel de las proteínas totales ni fibrinógeno entre estas razas de caza, pero si se presentan diferencias a los niveles de las proteínas totales en relación a los intervalos de referencia en general, donde los límites superiores calculados para estas 5 razas de caza llegan a un máximo de 80 g/l mientras que en los intervalos para perros en general que utilizó Miglio et al (2020) en su estudio es de 85 g/l, no se presentaron diferencias en los límites inferiores en relación a los perros en general donde marco un límite de 60 g/l, pero en relación a los intervalos de Miglio et al. (2020) de proteínas totales concuerdan a los establecidos por este estudio, se evidencio con un método Bootstrap que no existen diferencias significativas.

Con relación a la variable de alimentación, es ampliamente reconocido que la dieta de los individuos puede influir significativamente en los valores hematológicos y bioquímicos. En nuestro estudio, se encontraron diferencias con relación al fibrinógeno y la relación proteína/fibrinógeno según el tipo de alimento consumido por los individuos. Sin embargo, debido al bajo número de individuos en algunas categorías de alimentos, como el caso de las dietas mixtas con 9 individuos y las dietas caseras con 4, siendo estas las que presentaron diferencias con relación a fibrinógeno y relación proteína fibrinógeno, estos 2 pools de datos al no ser representativos se decidieron excluir del estudio. Esta exclusión logro que no se encontraran diferencias respecto al alimento en los analitos de este estudio

Cai et al. (2022) en su estudio de como la dieta podría afectar a los parámetros séricos de 18 perros Beagles adultos sanos, utilizó dietas de proteínas de alto valor biológico, con carnes sin procesar, en sus resultados demostró que no hubo diferencias significativas en los valores séricos de los perros con dietas de proteínas sin procesar versus a los perros que consumen dietas secas o también llamadas pellets, pero si demostró que existían leves aumentos en relación algunos factores de coagulación.

Los perros en este estudio al no tener diferencias significativas en sus variables fisiológicas y ambientales se estableció los valores de referencia como una sola población, los rangos establecidos en este estudio para las proteínas dieron como límite

inferior 48 g/l y como límite superior 80 g/l. Comparado con los valores de Kraft y Dûrr (2000) cuyo límite inferior fue de 58 g/l y su límite superior 78 (g/l), mientras que Wittwer (2019) establece que sus intervalos de proteínas totales tienen un rango de 58 g/l a 80 g/l, en ambos estudios se desconoce el número de perros con los cuales se realizaron los intervalos de referencia, pero comparación con los resultados de este estudio no se observan diferencias en los límites superiores respecto a los Wittwer (2019) y los de Kraft y Dûrr (2000) mientras que en sus límites inferiores se puede observar una diferencia de 10 g/l en relación a los de este estudio, pero para comprobar si existen o no diferencias se realizó un modelo Bootstrap en el cual se estableció que no existen diferencias significativas entre los intervalos de referencia tanto de Wittwer (2019) como los de Kraft y Dûrr (2000) con los descritos en este estudio. Al no saber cuál fue el n de cada uno se puede asumir al no existir diferencias que el pool de la muestra fue similar al utilizado en este estudio.

Los intervalos de fibrinógeno de este estudio dieron un rango de 1 g/l a 6 g/l mientras que Wittwer (2019) establece que los valores de fibrinógeno van desde 1 g/l a 5g/l, se desconoce el n que utilizó Wittwer para establecer estos intervalos, en el caso de Donoso (2013) indica en su estudio que los intervalos de fibrinógeno van de 1 g/l a 4 g/l, este estudio tiene un n de 120 individuos de los cuales fueron seleccionados a partir de criterios de exclusión similares a los utilizados en este estudio, variando solo en que se utilizaron perros de todas las etapas fisiológicas, ambos estudios concuerdan con el rango inferior de los analitos de este estudio, no obstante se encuentran diferencias en el límite superior, aunque aplicando un análisis Bootstrap no se encontraron diferencias significativas entre los intervalos de ambos estudios respecto a los propuestos por este. Respecto a los intervalos propuestos por Wittwer (2019) se puede decir que a pesar de no conocer el n que utilizó, al no poseer diferencias significativas con este estudio, se puede inferir que se utilizó un pool similar al de este estudio, aunque respecto a Donoso (2013) la diferencia de 2 g/l en su límite superior se puede explicar por qué utilizó a pacientes geriátricos siendo un 33% de su total de muestra, siendo que en esta etapa se pueden ver alterados los valores de proteínas de fase aguda.

Los intervalos establecidos en este estudio para la relación proteína/fibrinógeno dieron un rango de 5 g/l a 28 g/l mientras que Wittwer (2019) establece como límite inferior 10 g/l y como límite superior 15 g/l, en el mismo caso que en los dos analitos anteriores se desconoce el n de muestra que utilizo, presentando una diferencia visual tanto en sus límites superiores como inferiores, pero al realizar una prueba Bootstrap no se encontraron diferencias significativas entre ambos intervalos, presentando una diferencia de medias de 4 no significativa, la diferencia de los límites que se observa en los intervalos de Wittwer (2019) con este estudio pueden ser explicados a razón de que el estudio de Wittwer fue realizado el 2004 y con los cambios en alimentación respecto a las nuevas dietas y productos alimenticios para mascotas que se han instaurado en el mercado en la última década (SERNAC, 2021) hayan existido cambios a nivel de la relación proteína/fibrinógeno.

7 CONCLUSIÓN

En este estudio se utilizó un n de 157 perros adultos sanos donde se descartaron 12 muestras por proceso de coagulación, quedando con un n de 145 individuos de los cuales 84 fueron hembras y 61 fueron machos. Del total de hembras 79 se encontraban en estado de esterilización y 5 enteras, mientras que los machos 45 se encontraban esterilizados, dando un total de 124 individuos esterilizados y 21 individuos enteros. Del total de 145 individuos 39 correspondían a talla pequeña, 52 de talla mediana, 35 de talla grande y 19 de talla gigante. Del total de 145 individuos 31 individuos consumían una dieta estándar, 75 dieta premium, 26 dieta super premium, 4 dieta casera y 9 dieta mixta.

Se encontró que en relación a los analitos de este estudio (proteínas totales, fibrinógeno y relación proteína/fibrinógeno) a las características genéticas (talla y sexo y estado reproductivo) los valores de proteínas seguían distribución normal, mientras que los de fibrinógeno y relación proteína fibrinógeno no seguían distribución normal en ninguna de las variables genéticas, pero ninguno de los analitos mencionados presentaba diferencias significativas en relación a las variables genéticas lo cual fue comprobado con pruebas estadísticas. Respecto a las variables ambientales (alimento) los analitos anteriormente mencionado solo las proteínas totales seguían distribución normal, mientras que el fibrinógeno y la relación proteína/fibrinógeno no siguieron distribución normal, también los analitos anteriores presentaron diferencias en relación a alimento, mientras que solo las proteínas totales no presentaron diferencias, esto comprobado a través de métodos estadísticos, pero al excluirse a los individuos que consumían dietas caseras y mixtas no se encontraron diferencias en el resto de analitos.

Se determino que los intervalos de referencia para cada analito fueron los siguientes, para proteínas totales con un límite inferior de 48 g/l y un límite superior de 80 g/l, para fibrinógeno con un límite inferior de 1 g/l y un límite superior de 6 g/l, para la relación proteína/fibrinógeno con un límite inferior de 5 g/l y un límite superior de 28 g/l.

8 REFERENCIAS

- Aguilar-Barojas, S. (2005). Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud. *Salud en Tabasco*, 11(1-2), 333-338. <https://www.redalyc.org/pdf/487/48711206.pdf>
- AKC. (s.f). *Agility measuring*. American Kennel Club. consultado el 08 de diciembre de 2024, de <https://www.thekennelclub.org.uk/events-and-activities/agility/new-to-agility/agility-measuring/>
- Ale, J. & Masina, L. (2022). *descripción de los hallazgos bioquímicos, presión arterial y uroanálisis en caninos con obesidad* [Tesis de grado para optar al título de Doctor en ciencias de las veterinarias, Universidad de la Republica]. Colibri. <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/36756/1/FV-35586.pdf>
- AlexLTW. (2022). *¿Qué es la condición corporal?* Dingonatura. Consultado el 09 de diciembre de 2023, de <https://www.dingonatura.com/que-es-la-condicion-corporal/>
- Arauz, M., Scodellaro, C. & Pintos, M. (2020). Atlas de Hematología Veterinaria: *Técnicas e Interpretación del Hemograma en Pequeños Animales (1a ed.)*. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata.
- Arroyo, V. & Fernández, J. (2012). Bases fisiopatológicas del uso de la albúmina humana en la cirrosis hepática. *Gastroenterología y hepatología*, 35(1), 42–49. <https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2011.06.005>
- Barrero, M. & Masgrau, J (2001). Proteinograma en medicina clínica. *Medicina integral*, 38(9), 404-409. <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-el-proteinograma-medicina-clinica-13022954>

- Bertolini, D. (2014). Evaluación del bienestar animal en perros (*canis lupus familiaris*) atendidos por el centro de salud veterinaria el roble y su relación con la calidad de vida de sus responsables. [Memoria para optar al Título de Médica Veterinaria, Universidad de Chile]. Repositorio académico de la Universidad de Chile. <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/132608/Evaluación-del-bienestar-animal-en-perros-%28Canis-lupus-familiaris%29-atendidos-por-el-Centro-de-Salud-Veterinaria-El-Roble-y-su-relación-con-la-calidad-de-vida-de-sus-responsables.pdf?sequence=1>
- Biblioteca Nacional de Medicina. (2022). *Análisis de globulinas ¿Qué es un análisis de globulinas?* MedlinePlus. Consultado el 24 de septiembre de 2023., de <https://medlineplus.gov/spanish/pruebas-de-laboratorio/analisis-de-globulinas/>
- Cabral, J. & Lucena, R. (2020). Analysis of precipitations by non-parametric tests of Mann-Kendall and Kruskal-Wallis. *Mercator*, 19. <https://doi.org/10.4215/rm2020.e19001>
- Cai, X., Liao, R., Chen, G., Lu, Y., Zhao, Y. & Chen, Y. (2022/01/). The influence of food processing methods on serum parameters, apparent total-tract macronutrient digestibility, fecal microbiota and SCFA content in adult beagles. *PLoS One*, 17(1)<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262284>
- Caro Pino Vet. a. (25 de junio de 2021). *Hematocrito video*. [Video]. YouTube. https://www.youtube.com/watch?v=l14piuUinFE&t=7s&ab_channel=CaroPinoVet
- Caro Pino Vet. b. (26 de junio de 2021). *Medición de fibrinógeno*. [Video]. YouTube. https://www.youtube.com/watch?v=RUW4UV5Mxxs&t=10s&ab_channel=CaroPinoVet
- Caro Pino Vet. c. (30 de agosto de 2021). *Como obtener el valor de proteínas plasmáticas*. [Video]. YouTube. https://www.youtube.com/watch?v=pA-Fdq79EvU&ab_channel=CaroPinoVet

- Chang Y., Hadox, E., Szladovits, B. & Garden, O (2016). Serum Biochemical Phenotypes in the Domestic Dog. *PLOS ONE*, 14(10), e0213562. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0149650>
- Connolly, S., Nelson, S., Jones, T., Kahn J. & Constable PD. (2019). The effect of age and sex on selected hematologic and serum biochemical analytes in 4,804 elite endurance-trained sled dogs. *PLOS ONE*, 14(12), e0226794. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0237706#sec004>
- Dagnino, J. (2014). Análisis de varianza. *Revista chilena de anestesia*, 43(4), 306-310. <https://revistachilenadeanestesia.cl/PII/revchilanestv43n04.07.pdf>
- Debowes, L. J., Mosier, D., Logan, E., Harvey, C., Lowry, S. & Richardson, D. C. (1996). Association of periodontal disease and histologic lesions in multiple organs from 45 dogs. *J Vet Dent*, 2, 57–60.
- Decreto 1 de 2014. [ministerio de salud]. reglamento de prevención y control de la rabia en humanos y en los animales. (29 de enero de 2014). <https://www.bcn.cl/leychile/navegar?idNorma=1058839>
- Dental problems in Greyhounds. (2007). En *Proceedings of the North American conference*, P. 1311, 1312.
- Díaz, J. (2016). *Determinación de intervalos de referencia de tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial activa, fibrinógeno y dímero-d mediante turbidimetría en caballos*. [Memoria de título para optar al título de médico veterinario, Universidad Austral de Chile]. Tesis electrónicas UACH. <http://c8ybertesis.uach.cl/tesis/uach/2016/fvd542d/doc/fvd542d.pdf>

Diccionario académico. (2023). *Suero sanguíneo*. Clínica Universidad de Navarra. Consultado el 25 de septiembre de 2023, de <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/suero-sanguineo>

Donoso, L. (2013). *Determinación de valores hematimétricos de perros clínicamente sanos en la ciudad de Quito* [Tesis posgrado UTMACH, Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias, Machala, Ecuador]. Recuperado de <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/4699>

Fernández, C. (2023). *Interpretación de la proteinograma parte 1*. Fracción alfa, beta, gamma y patrones. Diagnóstico veterinario.com. <https://www.diagnosticoveterinario.com/interpretacion-del-proteinograma-i/7800>

Flores, O., Ramírez, K., Meza, J. & Nava, J. (2014). Fisiología de la coagulación. *Revista mexicana de anestesiología*, 37(2), 383-386. <https://www.medigraphic.com/pdfs/rma/cma-2014/cmas142c.pdf>

Fraile, A. (2014). *Marcadores bioquímicos: proteínas totales, albúmina y globulinas séricas (2a parte)*. Actualidad médico-quirúrgica del Hospital JG. <http://vetblog.vetjg.com/marcadores-bioquimicos-proteinas-totales-albumina-y-globulinas-sericas-2%C2%AA-parte/>

Friedrichs, K., Harr, K., Freeman, K., Szladovits, B., Walton, R., Barnhart, K. & Blanco-Chavez, J. (2012). ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Veterinary Clinical Pathology*, 41(4), 441–453. <https://doi.org/10.1111/vcp.12006>

Friedrichs, K., Harr, K., Freeman, K., Szladovits, B., Walton, R., Barnhart, K. & Blanco-Chavez, J. (2012). ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Veterinary Clinical Pathology*, 41(4), 441–453. <https://doi.org/10.1111/vcp.12006>

- Geffré, A., Friedrichs, K., Harr, K., Concordet, D., Trumel, C. & Braun, J. P. (2009). Reference values: a review. *Veterinary clinical pathology*, 38(3), 288–298. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2009.00179.x>
- Goedelmann, C., Benavídez, C., Durando, M., García, R., González, M., Sala, M. & Paz, L. (2018). Influencia de los anticoagulantes EDTAK2 y EDTAK3 en los resultados del hemograma. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 52(3), 323-330. <https://www.redalyc.org/journal/535/53568423007/html/>
- González, J., Figueira, L. & Reigosa, A. (2008). Selectina-E, VCAM-1, FNT- α , IL-6, PCR y Fibrinógeno plasmático como marcadores de inflamación en la aterosclerosis, en conejos machos Nueva Zelanda, expuestos a una dieta hiperlipidémica. *Salus*, 12(2), 50-57. <https://www.redalyc.org/pdf/3759/375938987010.pdf>
- Gorrel, C. (2013). *Veterinary Dentistry for the General Practitioner*. Elsevier Health Sciences.
- Gutierrez, J. (2010). Vacunación en perro y gato. *Inmunología veterinaria*. (pp. 269 - 285). El manual moderno. <https://n9.cl/kl373>
- Hankins, J. (2008). Función de la albúmina en el equilibrio hídrico. *Nursing*, 26(10), 42-43. [https://doi.org/10.1016/S0212-5382\(08\)70820-3](https://doi.org/10.1016/S0212-5382(08)70820-3)
- Hardham, J., Dreier, K., Wong, J., Sfintescu, C. & Evans, R. T. (2005). Pigmented-anaerobic bacteria associated with canine periodontitis. *Veterinary Microbiology*, 106(1–2), 119–128. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.12.018>
- Hematocrito. (03 de diciembre de 2023). En Wikipedia. <https://es.wikipedia.org/wiki/Hematocrito>
- Hennet, P. (2006). Nutrición y salud oral en el perro. Enciclopedia de la Nutrición Clínica Canina; Pibot, P., Biourge, V., Elliot, DA, Eds, 413-418.

Instituto nacional del cáncer. (2 febrero, 2011). *Fibrina*. Diccionario del cáncer. Consultado el 20 de septiembre de 2023, de <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/fibrina>

Izurieta, J., Luna, D., Cedeño, Y. & Chacha, S. (2017). Determinación de los valores de referencia en el hemograma de caballos nacidos o criados a más de 300 m.s.n.m. en la sierra centro norte ecuatoriana. *La Granja. Revista de Ciencias de la Vida*, 25(1), 62-70. <https://doi.org/10.17163/lgr.n25.2017.06>

Kraft, W. & Dürr, U. (2000). Diagnóstico de laboratorio clínico en veterinaria. EDIMSA.

Ley N° 20.174. Crea la XIV Región de Los Ríos y la Provincia de Ranco en su Territorio. (05 de abril de 2007). En Biblioteca del Congreso Nacional de Chile. <https://bcn.cl/3g1ma>

Loesche WJ - Ecology of the oral flora. In Newman and Nisengard (eds). Chp 25: Oral microbiology and immunology; Philadelphia, WB. Saunders, 1988.

Malagón, D., Cardozo, C. & Godoy, R. (2011). Uso de fibrinógeno humano en la generación de soportes para la obtención de equivalentes tisulares. *Revista colombiana de biotecnología*, 13(2), 243–252. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=77621587024>

Martí, S., abril, C. & Bosch, A. (2014). *Criterios de trabajo según la muestra y el estudio destinado*. En los biobancos en la era “ÓMICA”: derivados hemáticos (pp 20-33). <https://redbiobancos.es/wp-content/uploads/LIBRO-LOS-BIOBANCOS-EN-LA-ERA-OMICA-DERIVADOS-HEMÁTICOS.pdf>

Martínez, F. (2018) *Alfa-2 globulina en sangre*. Tuotromédico. Consultado el 25 de septiembre de 2023 de <https://www.tuotromedico.com/temas/alfa-2-globulina.htm>

- Martínez, L., Marques, F., Ozarda, Y., Blanco, A., Brouwer, N., Canalias, F., Cobbaert, C., Thelen, M., & den Elzen, W. (2021). Big data e intervalos de referencia: motivación, prácticas actuales, prerrequisitos de armonización y estandarización y futuras perspectivas en el cálculo de intervalos de referencia mediante métodos indirectos. *Advances in Laboratory Medicine*, 2(1), 17–25. <https://doi.org/10.1515/almed-2020-0084>
- Merizalde, M. (2011). *Determinación de Parámetros Hematológicos, Proteínas Plasmáticas, Valores de Presión Arterial y Electrocardiografía en 300 Caninos Sanos en Bogotá y la Sabana a 2600 msnm* [Tesis de maestría, Universidad de La Salle]. Recuperado de https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1031&context=maest_ciencias_veterinarias
- Miglio, A., Gavazza, A., Siepi, D., Bagaglia, F., Misia, A. & Antognoni, M. (2020). Hematological and Biochemical Reference Intervals for 5 Adult Hunting Dog Breeds Using a Blood Donor Database. *Animals MDPI*, 10(7), 1212. <https://doi.org/10.3390/ani10071212>
- Miñana-Mora, O. & Moya-Vázquez. (2022). Interpretación de las alteraciones de la proteinograma en trece hurones (*Mustela putorius furo*). *Clin Vet Peq Anim*, 42 (1), 27-36. <https://www.clinvetpeqanim.com/img/pdf/2138513232.pdf>
- Mishra, P., Singh, U., Pandey, C. M., Mishra, P. & Pandey, G. (2019). Application of student's t-test, analysis of variance, and covariance. *Annals of cardiac anaesthesia*, 22(4), 407–411. https://doi.org/10.4103/aca.ACA_94_19

- Mollinedo, K. (2004). *Relación proteínas/fibrinógeno en equinos con síndrome abdominal agudo como parámetro de pronóstico clínico*. [Tesis para obtener el título de medica veterinaria zootecnista, Universidad nacional autónoma de México]. Repositorio institucional de la UNAM. Repositorio Institucional. https://repositorio.unam.mx/contenidos/relacion-proteinasfibrinogeno-en-equinos-con-sindrome-abdominal-agudo-como-parametro-de-pronostico-clinico-3524274?c=pR2aXE&d=false&q=*&i=2&v=1&t=search_0&as=0
- Morales, D. (2016). *Determinación de anticuerpos IgG contra parvovirus canino tipo 2 en perros inmunizados con dos protocolos de vacunación*. [Tesis para obtener el Título de Médica Veterinaria Zootecnista, Universidad Autónoma del estado de Mexico]. Repositorio Institucional. <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/65605>
- Mosquera, J. (2021). *Como funciona la medición de proteínas con un refractómetro*. CROMTEK. Consultado el 29 de noviembre de 2023, de <https://www.cromtek.cl/2021/01/13/como-funciona-la-medicion-de-proteinas-con-un-refractometro/>
- MSD Salud Animal Chile. (2023, 12 mayo). *NOBIVAC® RABIA - MSD Salud Animal Chile*. <https://www.msd-salud-animal.cl/productos/nobivac-vacuna-rabia/>
- Mundim, A., Coelho, A., Hortêncio, M., Guimarães, C. & Espindola, S. (2007). Influence of age and sex on the serum biochemical profile of Doberman dogs in the growth phase. *Comparative Clinical Pathology*, 16(1), 41-46. <https://doi.org/10.1007/s00580-006-0653-z>
- Ortega, C. (2023). *Desviación estándar: Qué es, usos y cómo obtenerla*. QuestionPro. Consultado el 04 de diciembre de 2023. <https://www.questionpro.com/blog/es/desviacion-estandar/>

- Osborne, C. (2017). Contención de perros y gatos. En J. Boyle (Ed.), *Crow & Walshaw's Manual de procedimientos clínicos en perros, gatos, conejos y roedores* (4ª ed., pp. 3-16). Multimédica ediciones veterinarias.
- Overman, P. R. (2000). Biofilm: a new view of plaque. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 1(3), 18–29. <https://doi.org/10.5005/jcdp-1-3-37>
- Paulí, S. (2021). *Cómo evaluar el índice de condición corporal en perros y gatos*. Blog de CIM Formación. Consultado el 09 de diciembre de 2023, de <https://www.cimformacion.com/blog/veterinaria/como-evaluar-el-indice-de-condicion-corporal-icc/>
- Pérez, A., Anica, E., Zavala, B., Gonzáles, G. & Carrillo, R. (2016). Concentrado de fibrinógeno: una opción en el manejo de la hemorragia aguda. *Revista mexicana de anestesiología*, 39 (2), 300-304. <https://www.medigraphic.com/pdfs/rma/cma-2016/cmas162b.pdf>
- ProfePoncho. (28 de noviembre de 2021). *Hematocrito: Como realizar el microhematocrito en tubo capilar*. [Video]. Youtube. https://www.youtube.com/watch?v=tXzwoylSCbo&ab_channel=ProfePoncho
- Quiroz, G. & Bouda, J. (2007). *Obtención y manejo de muestras para análisis en el laboratorio*. En L. Núñez. y J. Bouda (Eds.), *Patología Clínica Veterinaria* (2a ed., pp., 10 - 19). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Rabigen Mono*. (s. f.). <https://mx.virbac.com/products/biologicos/rabigen-mono>
- Rached, I., Azuje, A. & Henríquez, G. (2002). Cambios en las variables hematológicas y bioquímicas durante la gestación en mujeres eutróficas. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 15(1), 11-17. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-07522002000100003&lng=es.

- Rauch, A. & Paris, C. (2018). Hemostasia primaria. EMC - *Tratado de Medicina*, 22(1), 1–12. [https://doi.org/10.1016/s1636-5410\(17\)87866-1](https://doi.org/10.1016/s1636-5410(17)87866-1)
- Ríos, C. (2019). *Manual patología clínica veterinaria en animales de compañía*. Universidad santo Tomás, 2019.
- Rodríguez, A., Lima, R., Gómez, P. & Quimis, A. (2020). Comprensión y manejo de la media aritmética, mediana y moda con datos agrupados en intervalos. *Roca. Revista científico - Educacional De La Provincia Granma*, 16(1), 1470-1483. <https://revistas.udg.co.cu/index.php/roca/article/view/2108>
- Rodríguez, J. (2018). Selección y mantenimiento de refractómetros. *El uso del refractómetro en el laboratorio clínico veterinario* (1ª ed., pp. 35 – 37). Universidad Nacional de Rosario. https://www.researchgate.net/publication/329886741_El_uso_del_refractometro_en_el_Laboratorio_Clinico_Veterinario_Manual
- Rosa, J., Zayas, E. & Calas, J. (2021). Las alfa globulinas como reactantes de fase aguda en el lupus eritematoso sistémico. *Revista cubana de reumatología*, 23(1), 193. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1817-59962021000100002&lng=es&tlng=en.
- SERNAC. (2021). *diagnóstico de mercado, alimentos secos para mascotas: perros y gatos*. https://www.sernac.cl/portal/619/articles-62906_archivo_01.pdf
- Silva, R., Sanchez, N. & Loaiza, A. (2008). Reporte de presentación de Ehrlichia canis en muestras sanguíneas de caninos en la ciudad de Cali, Colombia. *Vet.zootec*, 2(1), 27-31. <http://vip.ucaldas.edu.co/vetzootec/downloads/v2n1a03.pdf>
- Sixto, G. & Cruz, J. (2010). Trastornos de la hemostasia durante la gestación. *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología*, 36(3), 440-461. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-600X2010000300014&lng=es&tlng=es.

Sociedad Española de medicina de laboratorio. (2021). *Fibrinógeno*. Labtestonline. Consultado el 23 de septiembre 2023 de <https://www.labtestsonline.es/tests/fibrinogeno>

Subsecretaría de Desarrollo regional y administrativo. (2021). *Las curiosidades del Registro Nacional de Mascotas a dos años de su obligatoriedad*. Subdere. Consultado el 25 de octubre de 2023, de <https://www.subdere.gov.cl/sala-de-prensa/las-curiosidades-del-registro-nacional-de-mascotas-dos-años-de-su-obligatoriedad>

Swicmltvideos. (02 de mayo de 2013). HCT Load Centrifuge. [Video]. YouTube. https://www.youtube.com/watch?app=desktop&v=vEAGFT8qpTQ&ab_channel=swicmltvideos

Tepán, J. (2017). *Determinación de valores de referencia en hemograma y química sanguínea en caninos hembras en condiciones de altitud* [Trabajo de Titulación Previo a la Obtención del Título de Médica Veterinaria Zootecnista, Universidad Politécnica Salesiana]. Repositorio Institucional. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/14476>

Tresguerres, J. & Izaguirre, R. (2005). Fisiología de la sangre: Capítulo 17. En R. Tresguerres, J (Ed). *Fisiología humana* (3ª Ed., pp. 264-280). McGraw Hill. <https://www.untumbes.edu.pe/bmedicina/libros/Libros10/libro123.pdf>

Unguryanu, T. & Grijibovski, A. (2014). Analysis of three independent groups using non-parametric Kruskal-Wallis test in Stata software. *Ekologiya Cheloveka (Human Ecology)*, 21(6), 55–58. <https://doi.org/10.17816/humeco17232>

Urquizo, G., Arteaga, R. & Chacón, P. (2019). Utilidad de los reactantes de fase aguda en el diagnóstico clínico. *Revista Médica La Paz*, 25(2), 91-98. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-89582019000200013&lng=es&tlng=es.

- Ussa, J. & Salgado, J. (2009). *Determinación de hematocrito Hto, proteínas plasmáticas totales ppt y albumina Alb en caballos de salto antes y después de cada entrenamiento en Bogotá*. [Trabajo de grado para optar al título de médico veterinario Universidad la Salle]. Ciencia unisalle. https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/346/
- Vargas-Ruiz, Á. (2016). El fibrinógeno: su fisiología e interacciones en el sistema de la coagulación. *Revista mexicana de anestesiología*, 39, (2) 321-323. <https://www.medigraphic.com/pdfs/rma/cma-2016/cmas162g.pdf>
- VIRBAC RABIGEN. (s. f.). <https://cl.virbac.com/products/vacunas/virbac-rabigen>
- Wittwer, F. (2019). Bases para el uso e interpretación de resultados de análisis clínicos. En C. Ríos (Ed.), *Manual de Patología Clínica Veterinaria en Animales de Compañía* (1a ed., pp. 19 - 48). Ediciones Santo Tomás.
- Wittwer, F. (2021). Conceptualización de la Patología Clínica. En F. Wittwer (Ed.), *Manual de Patología Clínica Veterinaria* (3a ed., pp. 17-54). Ediciones Universidad Austral de Chile.
- Wittwer, F. & Islas, A. (2021). Hematología Clínica. En F. Wittwer (Ed). *Manual de Patología Clínica Veterinaria* (3a ed., pp 55-112) Ediciones Universidad Austral de Chile.
- Wittwer, F. & Chihuailaf, R. (2021). Bioquímica Clínica. En F. Wittwer (Ed). *Manual de Patología Clínica Veterinaria* (3a ed., pp 113-146) Ediciones Universidad Austral de Chile.
- World Small Animal Veterinary Association. (2013). *Body Condition Score – Dog*. <https://wsava.org/wp-content/uploads/2020/01/Body-Condition-Score-Dog.pdf>

9 ANEXOS

Anexo 1: Consentimiento informado.

Yo _____, RUT _____, autorizo la participación de mi(s) mascota(s) en el estudio realizado por _____, RUT _____, estudiante de Medicina Veterinaria de la Universidad San Sebastián de la sede de la Patagonia, para su proyecto de memoria para optar al título de Médico Veterinario.

Declaro haber sido informado/a acerca del procedimiento que se le hará a mi(s) mascota(s), que tengo conocimiento de que conlleva riesgos mínimos para mi(s) mascota(s) y autorizo su realización.

Entiendo que la información entregada será utilizada con fines científicos, y que los datos personales entregados serán manejados en forma confidencial.

Firma

Fecha

DATOS DE LA MASCOTA O ANIMAL DE COMPAÑÍA		Nº
Nombre		
Edad		
Sexo		
Estado reproductivo		
Comuna de residencia		

Correo de contacto		
Deseo recibir los resultados de este estudio	Si	No

Anexo 2: Información sobre el procedimiento.

Información sobre estudio

DETERMINACIÓN DE INTERVALOS DE REFERENCIA SANGUÍNEOS EN PERROS ADULTOS SANOS DE LA REGIÓN DE LOS LAGOS

Estimado/a propietario/a de mascota:

Le invitamos a participar en el estudio “Determinación de intervalos de referencia sanguíneos en perros adultos sanos de la Región de Los Lagos durante el primer semestre del año 2024”, realizado por la Escuela de Medicina Veterinaria.

El objetivo general de este proyecto es determinar los intervalos de referencia de componentes sanguíneos en perros adultos clínicamente sanos mediante métodos manuales y automatizados con el fin de establecer valores propios del Laboratorio de Análisis Clínico y Microbiológico del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad San Sebastián sede de la Patagonia.

La extracción de sangre es un procedimiento habitual en la clínica veterinaria para evaluar el estado de salud, que conlleva riesgos mínimos para su mascota. Para ello se requiere depilar la zona de donde se tomará la muestra con una máquina rasuradora. Se utilizará alcohol para desinfectar y limpiar antes de ingresar la aguja, y sólo se puncionará una vez para evitar la alteración de los valores.

En caso de que no se logre realizar la extracción de sangre, su mascota quedará excluida del estudio.

Como beneficio de participar en este estudio usted opta a recibir los resultados obtenidos de los exámenes de sangre, los que podrá entregar al médico veterinario tratante de su mascota para su interpretación.

Toda la información personal entregada para este estudio será completamente confidencial y no se utilizará con otros fines.

Si tiene alguna consulta o preocupación respecto a sus derechos como participante, comuníquese con el investigador principal, Carolina Pino Olgún, al correo carolina.pino@uss.cl o con Nicolás Colhuan correo manuel.colhuan@uss.cl.

Atentamente,

Estudiantes de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad San Sebastián sede de la Patagonia.

Anexo 3: Examen clínico.

Datos del paciente:

Nombre: Edad:
Raza: Sexo:
Color: Peso:
Esterilizado/ Castrado: C/C:

Examen Clínico:

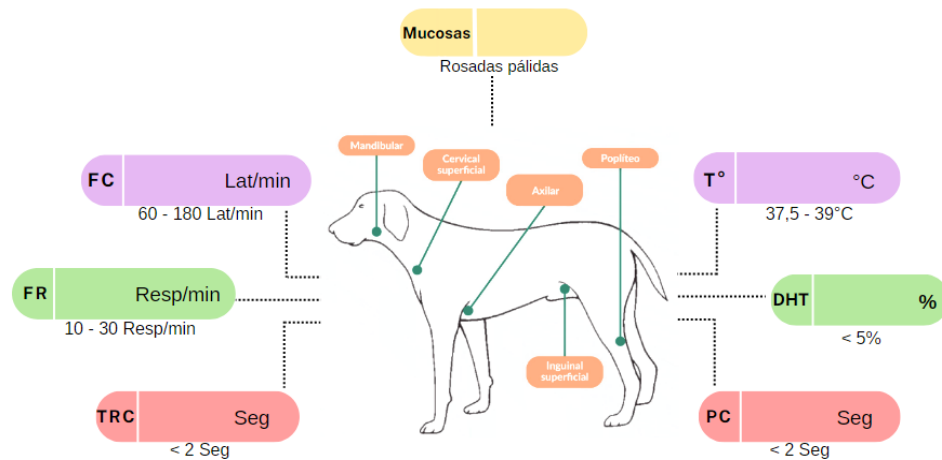


Figura 1: Examen clínico general. Fuente: Vásquez, 2023, basado en Fossum, 2009 y Bosh y Torente 2012.

Antecedentes:

Órganos/ sistemas			Comentarios
Sistema Cardiovascular	Sin hallazgos Soplo cardiaco Arritmias Taquicardia Bradicardia	Soplo: ____ Grado I: Soplo de baja intensidad, escuchado luego de un tiempo en habitación silenciosa, en área muy delimitada ____ Grado II: Soplo leve pero fácilmente perceptible en ambiente silencioso ____ Grado III: Soplo localizado, de intensidad media audible de inmediato ____ Grado IV: De moderado a marcado, área diseminada de auscultación, sin vibración (frémito) ____ Grado V: Soplo marcado más frémito precordial ____ Grado VI: Soplo fuerte, diseminado, audible separando el fonendoscopio de la pared torácica	
	Pulso Bilateral Simétrico Regular Rítmico Sincrónico		

<i>Sistema respiratorio</i>	_____ Sin hallazgos _____ Estertores _____ Taquipnea _____ Disnea _____ Bradipnea	Estertores: _____ Bronquial seco: sibilancias, ronqueras _____ Bronquiales húmedos: Presencia de secreciones _____ Alveolares: crepitaciones al final de la inspiración	
<i>Mucosas</i> <i>Conjuntivas</i> <i>Labio gingival</i> <i>Genital</i>	_____ Cianóticas _____ Hiperémicas _____ Rosadas _____ Ictéricas _____ Pálidas		
<i>Cavidad Bucal</i>	_____ Sin alteraciones _____ Enfermedad periodontal	_____ Grado 1 Gingivitis leve: presenta eritema ligero en la encía marginal _____ Grado 1 Gingivitis moderada: la encía está edematizada y existe sangrado al sondaje _____ Grado 1 Gingivitis grave: encía está inflamada, hiperplásica o retraída, con evidente eritema, edema y sangrado espontáneo _____ Grado 2: Hay menos de 25% de pérdida de inserción periodontal medida por sondaje a la exploración clínica o a través de una radiografía, midiendo la distancia del borde alveolar a la unión cemento-esmalte relativa a la longitud de la raíz o si hay un estadio 1 de afección de la furca en los dientes multirradiculares _____ Grado 3: entre 25 - 50% de pérdida de inserción, medida por sondaje o radiografía o	

		encontrándose un estadio 2 de afección a la furca en los dientes multirradiculares. ____ Grado 4: Más del 50% de pérdida de inserción, medida ya sea por sondaje o radiografía, o si hay un estadio 3 de afección a la furca en los dientes multirradiculares.	
<i>Nariz</i> <i>y fosas nasales</i>	____ Sin hallazgos ____ Simetría ____ Edema ____ Hiperemia ____ Tumoraciones	Secreción: ____ Unilateral ____ Bilateral	
<i>Ojos</i>	____ Sin alteraciones ____ Con alteraciones	____ Epiforas ____ Conjuntivitis ____ Ulceras ____ Masas	
<i>Oídos</i> <i>Conducto auditivo externo</i> <i>Conducto auditivo interno</i> <i>Conducto auditivo medio</i>	____ Sin alteraciones ____ Con alteraciones	Secreción: ____ Unilateral ____ Bilateral	
<i>Nódulos linfáticos</i> <i>Mandibulares</i> <i>Superficiales</i> <i>Axilares</i> <i>Inguinales</i> <i>Poplíteos</i>	____ Tamaño y forma ____ Superficie ____ Consistencia ____ Sensibilidad		

	☐ Movilidad ☐ Simetría ☐ Temperatura		
<i>Genitales</i>	☐ Sin alteraciones ☐ Con alteraciones		
<i>Piel y Pelaje</i>	☐ Sin alteraciones ☐ Con alteraciones	☐ Pelaje hirsuto ☐ Mala implantación ☐ Soluciones de continuidad	
<i>Palpación Abdominal</i>	☐ Sin alteraciones ☐ Con alteraciones	☐ Neoplasias ☐ Abdomen distendido	

Fuente: Vásquez, 2023 basado en Brejov, 2014 y UBA, 2014.

Anexo 4. Preguntas de anamnesis.

Cuestionario de anamnesis

Nº _____

Nombre tutor(a):

Datos del paciente:

Nombre:

Edad:

Raza:

Sexo:

Esterilizado: Si / No

Anamnesis:

1- ¿Ha ido al veterinario antes?

Si No

2- ¿Cuándo recibió sus últimas vacunas? ¿Cuáles?

Rp.

3- ¿Cuándo fue la última desparasitación? ¿Con qué?

Rp.

4- ¿Qué alimento come?

A) Concentrado

B) Comida casera

C) Mixto

5- ¿Qué marca es el concentrado? o ¿qué contiene la comida casera?

Rp.

6- ¿Ha visto cambios en el comportamiento de su mascota en la última semana?

¿Cuáles? ¿Ha habido algún cambio en su rutina habitual?

Si No

Rp.

7- ¿Ha visto un cambio en su consumo de agua y/o alimento en la última semana?

Descríbalo.

Si No

Rp.

8- ¿En la última semana ha visto vómitos? Descríbalo.

Si No

Rp.

9- ¿En la última semana ha visto alguna alteración en las heces o al momento de defecar? ¿Cuál?

Rp.

10-¿En la última semana ha visto tos?

Rp.

11-¿Cuándo fue el último celo? ¿Cuánto duró?

Rp.

12-¿Actualmente, está con algún tratamiento?

Si No

13-¿Cuál es el tratamiento? ¿Hace cuánto?

Rp.

14- ¿Ha tenido alguna complicación de salud en las últimas 2 semanas?

Si No

Rp.

15- Cirugías previas (cuál/es) y fecha aproximada:

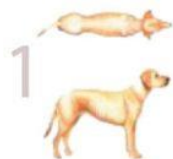
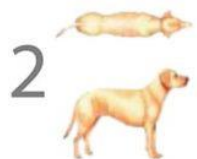
Si No

16- ¿Cuándo fue su última comida?

Rp.

Anexo 5: Condición corporal.

ÍNDICE DE CONDICIÓN CORPORAL (ICC)

MUY DELGADO	DELGADO	PESO IDEAL	SOBREPESO	OBESIDAD
			Mayor riesgo de enfermedad	Alto riesgo de enfermedad
1	2	3	4	5
				
Costillas Evidentes a la distancia, sin grasa corporal discernible	Costillas Fácilmente visibles, sin grasa palpable	Costillas Fácilmente palpables con mínima cubierta de grasa	Costillas Palpables con dificultad debido a la gruesa capa de grasa	Costillas No palpables bajo una gruesa capa de grasa
Base de la cola Huesos prominentes, sin ninguna capa de grasa	Base de la cola Huesos prominentes, con una fina capa de grasa	Base de la cola Contorno liso, cubierta por una fina capa de grasa	Base de la cola Algo engrosada, los huesos se palpan una moderada capa de grasa	Base de la cola Muy engrosada y difícil de palpar a través de una gruesa capa de grasa
Vista lateral Pliegue abdominal muy marcado	Vista lateral Pliegue abdominal	Vista lateral Pliegue abdominal	Vista lateral Sin pliegue abdominal	Vista lateral Sin cintura, la grasa cuelga desde el abdomen
Vista desde arriba Figura de "reloj de arena" muy marcada	Vista desde arriba Figura de "reloj de arena" marcada	Vista desde arriba Cintura bien proporcionada	Vista desde arriba Cintura ligeramente ensanchada	Vista desde arriba Cintura muy ensanchada

Fuente: (Paulí, 2021).

Anexo 6: Checklist toma de muestra.

		Nº	Hora y fecha de recolección:
Recomendaciones		Comentarios	
Se realizó una inspección general a distancia del paciente previo al examen clínico, observando su aspecto, temperamento, condición corporal, pelaje, postura en estación, marcha y decúbito, respuesta al medio y expresión facial.	☐ Si ☐ No ☐ N/A		
Se realizó auscultación cardíaca y se evaluaron los sonidos, la frecuencia y el ritmo. Se realizó palpación del pulso arterial en la arteria femoral o braquial, evaluando bilateralidad, simetría, regularidad, ritmo y sincronía con frecuencia cardíaca.	☐ Si ☐ No ☐ N/A		
Se realizó auscultación e inspección visual de la frecuencia respiratoria. Se auscultó con fonendoscopio ambos hemitórax evaluando la presencia de sonidos anormales.	☐ Si ☐ No ☐ N/A		
Se observó la perfusión sanguínea e hidratación de la mucosa.	☐ Si ☐ No ☐ N/A		
Se examinó la cavidad bucal, revisando la presencia de enfermedad periodontal y se registró el grado observado.	☐ Si ☐ No ☐ N/A		
Se examinaron las fosas nasales, observando su forma, simetría y abertura. Se examinó la morfología	☐ Si ☐ No ☐ N/A		

estructural de la cavidad nasal, junto con la presencia de secreciones.		
Se realizó una inspección de la zona ocular para evaluar signos de conjuntivitis, úlceras o masas.	☐ Si ☐ No ☐ N/A	
Se examinó el conducto auditivo, determinando la presencia o ausencia de alteraciones y/o secreciones.	☐ Si ☐ No ☐ N/A	
Se inspeccionó el tamaño, forma, simetría, superficie, consistencia, temperatura, sensibilidad y movilidad de los linfonodos submandibulares, axilares, inguinales superficiales o mamarios, y poplíteos.	☐ Si ☐ No ☐ N/A	
Se realizó un examen de piel y pelaje, observando el brillo, olor, docilidad, largo, temperatura, elasticidad, presencia de secreciones, zonas alopécicas, aumento de volumen o soluciones de continuidad.	☐ Si ☐ No ☐ N/A	
Se evaluó el estado de deshidratación, y se determinó que era menor al 5%. Las mucosas (conjuntiva palpebral, labio-gingival y genital) se observaron de color rosado pálido, el tiempo de relleno capilar fue menor a 2 segundos y el tiempo de retorno del pliegue cutáneo fue menor a 2 segundos.	☐ Si ☐ No ☐ N/A	
Se observó la forma del abdomen, y posibles deformaciones y cambios de volumen. Se realizó una palpación abdominal externa con el paciente en estación.	☐ Si ☐ No ☐ N/A	

Se midió temperatura rectal en mucosa dorsal, esperando el tiempo requerido por el termómetro.	☐ Si ☐ No ☐ N/A	
Se realizó tricotomía de la zona a favor del pelaje para la visualización del vaso a puncionar, y se desinfectó con algodón y alcohol. Se esperó a que se secase el alcohol (sin soplar) antes de la venopunción.	☐ Si ☐ No ☐ N/A	
Se realizó una correcta sujeción del paciente. Se utilizó un torniquete elástico por menos de 1 minuto para generar vasodilatación.	☐ Si ☐ No ☐ N/A	
Para la venopunción se utilizó sólo una aguja nueva y estéril, ingresando con el bisel hacia arriba en un ángulo de 45° en sentido opuesto a la corriente sanguínea, manteniendo una presión menor a 1 mL con émbolo durante la extracción de la muestra.	☐ Si ☐ No ☐ N/A	
Los tubos fueron llenados con el volumen de sangre acorde a su tamaño, en una inclinación de aproximadamente 60°. Se retiró la aguja de la jeringa antes de transferir la muestra, y la sangre ingresó deslizándose por la pared del tubo.	☐ Si ☐ No ☐ N/A	
Los tubos fueron tapados e invertidos inmediatamente después de ser llenados, homogenizando la muestra.	☐ Si ☐ No ☐ N/A	
Los tubos utilizados son los adecuados para el examen a realizar, y fueron	☐ Si ☐ No ☐ N/A	

llenados con la cantidad adecuada de sangre. Tubo celeste para coagulación, amarillo para bioquímica, lila para hemograma.		
Los tubos fueron llenados en orden: citrato de sodio (celeste), gel separador (amarillo), EDTA (lila).	☐ Si ☐ No ☐ N/A	
Los tubos fueron rotulados con su número de ficha y hora de recolección correspondiente.	☐ Si ☐ No ☐ N/A	

Anexo 7: Lista de cotejo de procesamiento de muestra.

Lista de cotejo de análisis de muestras en tubos EDTA en laboratorio mediante métodos de Hematocrito, medición de fibrinógeno y medición de proteínas séricas.

Esta guía es un registro y de procesamiento de muestras, control de trazabilidad de la información y guía para la replicación futura del estudio.

n1	Las muestras han cumplido con las condiciones de almacenamiento y transporte.	SI ____ NO ____ N/A ____	COMENTARIO
n2	Las muestras ingresan al laboratorio con rotulación única e indeleble y se procesan en gradillas individuales.	SI ____ NO ____ N/A ____	COMENTARIO
n3	Los tubos capilares de microhematocrito se encuentran en condiciones óptimas, limpios y sin fisuras.	SI ____ NO ____ N/A ____	COMENTARIO
n4	Los tubos capilares de microhematocrito son llenados idealmente hasta 3/4 partes de su capacidad.	SI ____ NO ____ N/A ____	COMENTARIO

n5	El baño maría tiene una temperatura controlada [>55 - <60 C°].	SI ____ NO ____ N/A ____	COMENTARIO
n6	La inmersión de hematocritos en baño María incluye la totalidad del plasma.	SI ____ NO ____ N/A ____	COMENTARIO
n7	Al retirar los hematocritos del baño María se observa turbio el plasma.	SI ____ NO ____ N/A ____	COMENTARIO
n8	La cámara del refractómetro queda sin restos de vidrio.	SI ____ NO ____ N/A ____	COMENTARIO
n9	Se introducen los datos obtenidos en la base de datos.	SI ____ NO ____ N/A ____	COMENTARIO
n10	Los desechos generados son eliminados en un contenedor para cortopunzantes.	SI ____ NO ____ N/A ____	COMENTARIO

Anexo 8: Autorización para utilizar instalaciones.

Carta de autorización para uso de dependencias Laboratorio de Análisis Clínico y Microbiológico HCV USS.



Mediante la presente carta de compromiso autorizo a la estudiante de Medicina Veterinaria de la Universidad San Sebastián, Joaquín Vicente Stewart Zúñiga, RUT 19.986.604-4 a utilizar las dependencias del Laboratorio de Análisis Clínico y Microbiológico del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad San Sebastián sede de la Patagonia para la realización de su proyecto de memoria de título denominado "Determinación de intervalos de referencia de la relación proteína/fibrinógeno en perros (*Canis lupus familiaris*) adultos clínicamente sanos durante el primer semestre del año 2024 en la Región de Los Lagos, Chile" lugar en donde podrá realizar el procesamiento y análisis de sus muestras.


Nombre y firma
Médico Veterinario a cargo

Fecha