



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**DETERMINACIÓN DE INTERVALOS DE REFERENCIA PARA  
PERFIL BIOQUÍMICO Y HEMOGRAMA EN EQUINOS FINA  
SANGRE DE CARRERA DE DOS Y TRES AÑOS DE EDAD,  
SOMETIDOS A ENTRENAMIENTO, EN LA REGIÓN  
METROPOLITANA**

**Diego Domínguez Irrarrázabal**

Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico Veterinario  
Departamento de Ciencias Clínicas

**Profesor Guía: Dr. Adolfo Godoy Pinto**  
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile

Financiado por Laboratorio de Química Clínica Especializada (LQCE)

**SANTIAGO, CHILE**  
**2016**



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**DETERMINACIÓN DE INTERVALOS DE REFERENCIA PARA  
PERFIL BIOQUÍMICO Y HEMOGRAMA EN EQUINOS FINA  
SANGRE DE CARRERA DE DOS Y TRES AÑOS DE EDAD,  
SOMETIDOS A ENTRENAMIENTO, EN LA REGIÓN  
METROPOLITANA**

**Diego Domínguez Irarrázabal**

Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico Veterinario  
Departamento de Ciencias Clínicas

NOTA FINAL: .....

|                    |                          | Firma |
|--------------------|--------------------------|-------|
| Profesor Guía      | Adolfo Godoy Pinto       | ..... |
| Profesor Corrector | Ana María Ramírez Kamann | ..... |
| Profesor Corrector | Mario Acuña Bravo        | ..... |

**Profesor Guía: Dr. Adolfo Godoy Pinto**  
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile

Financiado por Laboratorio de Química Clínica Especializada (LQCE)

**SANTIAGO, CHILE**  
**2016**

## ÍNDICE

|                             |            |
|-----------------------------|------------|
| Índice.....                 | <b>i</b>   |
| Resumen.....                | <b>ii</b>  |
| Abstract.....               | <b>iii</b> |
| Introducción.....           | <b>1</b>   |
| Revisión Bibliográfica..... | <b>2</b>   |
| Hipótesis.....              | <b>5</b>   |
| Objetivo General.....       | <b>6</b>   |
| Objetivos Específicos.....  | <b>6</b>   |
| Materiales y Métodos.....   | <b>7</b>   |
| Resultados.....             | <b>12</b>  |
| Discusión.....              | <b>22</b>  |
| Conclusiones.....           | <b>27</b>  |
| Bibliografía.....           | <b>28</b>  |
| Anexos.....                 | <b>31</b>  |

## RESUMEN

El entrenamiento atlético induce adaptaciones fisiológicas necesarias para alcanzar un mayor nivel deportivo. Uno de los métodos para evaluar la eficacia del entrenamiento es verificar modificaciones de algunos parámetros sanguíneos. El objetivo de este estudio fue determinar intervalos de referencia (IR) para hemograma y perfil bioquímico, de dos grupos de equinos FSC en competencia, de dos y tres años de edad hípica y compararlos entre sí. Se utilizaron 60 equinos FSC, clínicamente sanos, con iguales normas de manejo, alimentación y entrenamiento, en dos grupos, 30 de dos años y 30 de tres años (edad hípica), con uno y dos años de entrenamiento respectivamente, adscritos a corrales del Club Hípico de Santiago. Los exámenes de sangre se realizaron en equipos automatizados. Se identificaron y eliminaron estadísticamente los valores atípicos, se obtuvo medidas de resumen de estadística descriptiva y se elaboraron los IR para hemograma y perfil bioquímico, aplicando la fórmula según el tipo de distribución (normal / no normal) con intervalo de confianza de 90%. Se aplicó prueba comparativa t para medias de dos muestras emparejadas. Los resultados se compararon con los valores de Duncan y Prasse, (1986); Kaneko *et al.*, (1997), ampliamente usados por laboratorios clínicos nacionales. Se establecieron valores de referencia para ambos grupos experimentales, sin diferencias significativas entre estos, en ninguno de los parámetros estudiados ( $p > 0,05$ ), esto se debería a que el tiempo de entrenamiento entre uno y otro no es significativo en los parámetros evaluados. Los IR de VGA, albúmina, índice A/G, enzimas séricas (transaminasa oxaloacética y gama glutamil transferasa) y bilirrubina total, fueron mayores al reportado por la literatura. Estas diferencias se pueden atribuir a las diferentes técnicas usadas y a que los valores referenciales no especifican edad, ni función del animal. Como conclusión se puede mencionar que con la metodología analítica y estadística empleada fue posible cumplir con los objetivos de este estudio, es así como los resultados obtenidos quedan a disposición del médico veterinario, laboratorios, y como base de futuras líneas investigativas.

**Palabras claves:** Equino Fina Sangre de Carrera, intervalos de referencia, hemograma y perfil bioquímico, entrenamiento hípico.

## **ABSTRACT**

Athletic training induces physiological adaptations necessary to achieve a higher sports level. One method for the evaluation of training effectiveness, is verify modifications of some blood parameters. The aim of this study was to determine reference values (RV) for complete blood count (CBC) and biochemical profile of two groups of thoroughbred horses competing of two and three years old and compare them with each other. Were used 60 thoroughbred horses, clinically healthy, with equal rules for handling, feeding and training, divided into two groups, 30 two-years horses and 30 three-years horses, with one and two years of training respectively, located in corrals of Club Hípico de Santiago. Blood tests were performed on automated equipment. Outliers were identified and statistically eliminated, summary measures of descriptive statistics were obtained and developed the RV for CBC and biochemical profile, applying the formula depending on the type of distribution (normal / not normal) with confidence interval of 90%. Comparative t-Student test was applied. The results were compared with values of Duncan and Prasse, 1986; Kaneko et al., 1997, widely used for national clinical laboratories. Reference values were established for both experimental groups, with no significant differences between these, in none of the studied parameters ( $p > 0.05$ ), this may be because the training time between them is not significant in the evaluated parameters. RV for hematocrit, albumin, A/G index, serum enzymes (oxaloacetic transaminase and gamma glutamyl transferase) and total bilirubin were higher than reported in the literature. These differences can be attributed to the different techniques used and the reference values do not specify age nor function of the animal. In conclusion, it can be mentioned that with the employed analytical and statistical methodology was possible to achieve the general and specific objectives of this study. Results are available to the veterinarian, laboratories, and as the basis of future investigative lines.

**Keywords:** Thoroughbred horses, reference values, blood count and biochemical profile, training.

## INTRODUCCIÓN

El entrenamiento involucra periodos regulares de ejercicio que promueven cambios en la estructura y función del animal, mejorando sobre todo el rendimiento, generando con eso un nivel adecuado para la competencia. Así, el entrenamiento físico prepara al equino atleta, mediante la inducción de adaptaciones fisiológicas necesarias para un mayor nivel deportivo, con un riesgo mínimo de lesión y proveyendo de un comportamiento adecuado y de factores psicológicos esenciales para una efectiva competición (Martínez, 2013). El ejercicio repetitivo da como resultado cambios a nivel celular, involucrando a todo el organismo (Fazio *et al.*, 2011). El principal método para evaluar la eficacia del entrenamiento, es verificar modificaciones de parámetros sanguíneos correspondientes a la competición (Hinchcliff y Geor, 2004); sin embargo, no se señala si estos cambios dependen del nivel y/o tiempo de entrenamiento y/o de la edad. Por lo tanto, se hace indispensable conocer lo que sucede en la dinámica sanguínea de distintos grupos de equinos y con diferentes tiempos de entrenamiento, de manera de detectar las eventuales variaciones de estos parámetros hematológicos y así contar con valores de referencia, que pueden ser útiles al momento de confrontar dichos resultados con los de animales normales en distintas etapas de entrenamiento y/o ser de utilidad en el caso de ejemplares que cursan alguna situación patológica. La información que nos provee el laboratorio clínico en animales Fina Sangre de Carrera (FSC) está dada por valores de referencia que han sido obtenidos, principalmente, de caballos extranjeros (Duncan y Prasse, 1986; Kaneko *et al.*, 1997), quienes están expuestos a distintos factores climáticos, de alimentación y de manejos.

En base a lo mencionado, surge el principal objetivo de este estudio, que consiste en determinar los valores referenciales para perfil bioquímico y hemograma en ejemplares en competencia, de dos y tres años, que se encuentren ubicados en la región Metropolitana, lugar en el que se encuentran los principales hipódromos de nuestro país y donde se aloja la mayor masa de equinos FSC en competencia de nuestro medio.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los intervalos de referencia (IR) son un componente integral de las pruebas de laboratorio diagnóstico y de la toma de decisiones clínicas (Friedrichs *et al.*, 2012). Estos, corresponden a un juego de valores de una cantidad medida, obtenidos a partir de un grupo de individuos (o de un solo individuo) en una situación definida de salud (Gómez *et al.*, 2003).

En el ámbito de la hematología y bioquímica clínica aplicada a equinos Fina Sangre de Carrera, la mayoría de los laboratorios comparan sus resultados a partir de valores entregados por estudios extranjeros (Duncan y Prasse, 1986 y Kaneko *et al.*, 1997). Considerando que los equinos, en general, están influenciados por diferentes tipos de manejo, transporte, cualidades raciales, temperamento y entrenamiento competitivo, no es posible asegurar que algunas o todas las variables constituyentes del hemograma y perfil bioquímico, no se hayan modificado a lo largo del tiempo (Gómez *et al.*, 2003). Debido a la ausencia de valores de referencia apropiados para el sexo, edad y tipos de manejo, se ve restringida la adecuada interpretación de los resultados de pruebas sanguíneas (Judson *et al.*, 2008). Sobre todo, para el equino FSC, que se sabe que tiende a modificar su metabolismo generando variaciones fisiológicas en los niveles de los constituyentes sanguíneos (Kedzierski *et al.*, 2009).

Mediante la medición de los constituyentes sanguíneos, es posible determinar las modificaciones fisiológicas y bioquímicas que ocurren como respuesta al ejercicio y entrenamiento al cual son sometidos los caballos (Evans *et al.*, 1993). Algunos estudios sobre estas adaptaciones en caballos Fina Sangre de Carrera, durante y después del ejercicio, han demostrado que existen cambios en ciertos parámetros sanguíneos, por ejemplo, la concentración de ácido láctico sanguíneo, el volumen total de glóbulos rojos y la concentración de hemoglobina, los cuales pueden ser indicadores confiables para evaluar la aptitud física y el nivel de entrenamiento que presenta un caballo para realizar un determinado ejercicio (Evans *et al.*, 1993). Los parámetros hematológicos y de bioquímica sanguínea han sido evaluados durante carreras de trote y durante carreras de larga distancia, mostrando variaciones significativas de algunos marcadores. También, la respuesta

hematológica y bioquímica al entrenamiento y a la competición, mostró diferentes adaptaciones dependiendo el tipo de ejercicio (Piccione *et al.*, 2010).

En lo que respecta al hemograma, el entrenamiento en caballos estimula aumentos del recuento de glóbulos rojos, hematocrito y concentración de hemoglobina, para ajustarse a una aumentada demanda periódica de oxígeno que el tejido muscular en ejercicio requiere. Este fenómeno es más pronunciado en los caballos jóvenes que recién empiezan con el estímulo de entrenamiento, aunque menos notorio, también se producen en caballos previamente acondicionado que vuelven a los entrenamientos después de un período de descanso (McKenzie, 2014). Los cambios sustanciales en el hemograma también tienen más probabilidades de ocurrir con el entrenamiento de carrera de ritmo rápido, como ocurre en los equinos FSC, en comparación con el entrenamiento submáximo o de resistencia. Sin embargo, los grandes cambios en el volumen de plasma que pueden ocurrir en respuesta al entrenamiento, pueden confundir la evaluación precisa de los cambios de la masa total de eritrocitos. En cuanto a la serie blanca, ni el ejercicio submáximo, ni la práctica de ejercicio intenso han reportado alterar significativamente el leucograma en caballos. No obstante, un leve aumento en la proporción neutrófilos/linfocitos, en el entrenamiento intenso de caballos durante 32 semanas, con concurrente eosinopenia, han sido identificados en un grupo de ejemplares definidos como sobreentrenados (McKenzie, 2014).

En cuanto al perfil bioquímico sanguíneo, el aumento plasmático de enzimas musculares en respuesta al ejercicio, ha sido propuesto como índice de aptitud, donde aquellos animales físicamente menos acondicionados presentan mayores incrementos en la actividad enzimática, que aquellos que presentan una mejor condición física (CK, AST) (Milne, 1982). Por otro lado, se ha observado el aumento progresivo en caballos de carrera sometidos a entrenamiento, de la actividad en el suero o plasma de GGT (glutamil amino transferasa) y aumentos de bilirrubina sérica. La significancia de estos cambios no es clara; sin embargo, se ha intentado conectar aumentos en actividad de GGT, con situaciones de sobre entrenamiento o síndromes de bajo rendimiento, sin disponer a la fecha de conclusiones claras al respecto (McKenzie, 2014).

Como ya se ha mencionado, debido a que el esfuerzo físico tiene influencia en múltiples constituyentes sanguíneos del caballo y puesto que el entrenamiento debe llevar a un metabolismo energético más eficiente, parece recomendable determinar estos parámetros cambiantes, de tal manera que estos estudios puedan relacionarse con el nivel de entrenamiento del equino atleta (Fazio *et al.*, 2011). Es así como el hemograma y perfil bioquímico de caballos de alta exigencia han sido propuestos como biomarcadores de su fisiología y de su nivel de entrenamiento (*Training Status*) (Martins *et al.*, 2005). Estos análisis también pueden ser útiles para evaluar el grado de su adaptabilidad al entrenamiento, como también para tener conciencia de estas diferencias en la clínica (Fazio *et al.*, 2011). Sin dejar de mencionar que para aceptar como válido el empleo de un valor de referencia, se señala que cada laboratorio debería manejar sus propios datos, establecidos a partir de estudios que consideren una muestra representativa de la población con la cual trabaja (Gómez *et al.*, 2003).

## **HIPÓTESIS**

- Existen diferencias estadísticamente significativas entre alguno/s de los intervalos de referencia de los parámetros evaluados en el perfil bioquímico y hemograma de equinos FSC, sometidos a dos periodos distintos de entrenamiento.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar intervalos de referencia para perfil bioquímico sanguíneo y hemograma de equinos Fina Sangre de Carrera (FSC) de dos y tres años de edad hípica, sometidos a entrenamiento y en competencia hípica, ubicados en la Región Metropolitana de Chile.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Establecer intervalos de referencia para perfil bioquímico sanguíneo y hemograma de equinos FSC de dos años (con un año de entrenamiento), sometidos a entrenamiento y en competencia hípica, ubicados en la Región Metropolitana de Chile
2. Establecer intervalos de referencia para perfil bioquímico sanguíneo y hemograma de equinos FSC de tres años (con dos años de entrenamiento), sometidos a entrenamiento y en competencia hípica, ubicados en la Región Metropolitana de Chile.
3. Comparar intervalos de referencia de los distintos grupos etarios, dos y tres años, para perfil bioquímico sanguíneo y hemograma de equinos FSC, sometidos a distinto tiempo de entrenamiento (uno y dos años).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Material Biológico**

En el presente estudio se utilizaron 60 equinos de raza FSC, 30 de dos años y 30 de tres años (edad hípica, según *Stud Book* de Chile, donde todos los ejemplares cumplen año el 1 de Julio). Todos ellos ubicados en uno de los hipódromos centrales de la región Metropolitana (RM). La mitad de los ejemplares en cada grupo fueron hembras (15) y la otra mitad machos (15), donde todos se encontraban en competencia hípica y habiendo comenzado su entrenamiento al año de edad, por lo cual el grupo de dos años tuvo un año de entrenamiento versus el grupo de tres años con dos años sometidos a entrenamiento. Los animales experimentales fueron sometidos a igual sistema de entrenamiento, basado en galopes semanales de 1000 a 2000 metros y trabajo en pista cuatro días antes de la competencia, recorriendo distancias semejantes a la de la próxima carrera oficial. El estudio se llevó a cabo en animales ubicados en corrales aledaños en el Club Hípico de Santiago de la región Metropolitana, sometidos a igual manejo hípico y alimentario.

### **Criterios de inclusión**

Se incluyeron equinos FSC (ambos sexos) de dos y tres años de edad hípica, con ocho a 12 horas de ayuno como máximo, (especificando que ayuno corresponde sólo a la privación de alimento), clínicamente sanos al momento de la toma de muestra (determinado por un examen clínico de rutina, frecuencia cardiaca, respiratoria, tiempo de llene capilar, pliegue cutáneo, examen de mucosas, temperatura, revisión de su ficha clínica en relación a antecedentes anamnésicos actuales y remotos) y que cumplieron con las medidas de manejo similares en términos de alimentación y forma de entrenamiento. Así mismo, todos los animales se encontraban al momento de la obtención de la muestra de sangre, en su periodo de descanso semanal, lo cual corresponde a las 48 horas previas al galope o trabajo programado, en estas horas sólo se mantienen a la marcha (paseo de tiro).

### **Criterios de exclusión**

Se excluyeron equinos FSC (ambos sexos) que no estaban sometidos a ayuno, o en su defecto que hubiesen superado el tiempo estimado o que se hayan privado de agua. Además, se excluyeron del estudio aquellos animales con algún parámetro de los

considerados en el punto anterior fuera de lo definido como normal para la especie, raza, sexo y edad y/o antecedentes anamnésicos de enfermedad, desde la llegada al hipódromo hasta el momento de la obtención de la muestra y/o que no cumplieron alguna de las especificaciones detalladas en el criterio de inclusión.

### **Variables evaluadas**

Se realizaron perfiles bioquímicos a los animales en estudio, registrando las siguientes variables: Proteínas totales (g/dl), albúminas (g/dl), globulinas (g/dl), índice albúmina/globulina, calcio (mg/dl), fósforo (mg/dl), glucosa (mg/dl), nitrógeno ureico sanguíneo (mg/dl), creatinina (mg/dl), transaminasa oxaloacética (U/L), gamma glutamil transferasa (U/L), fosfatasa alcalina (U/L), creatinquinasa (U/L), bilirrubina Total (mg/dl).

Se realizaron hemograma a los animales en estudio, registrando las siguientes variables: Recuento total de eritrocitos (mm<sup>3</sup>), volumen globular aglomerado (%), hemoglobina (%), volumen corpuscular medio (Ft), concentración de hemoglobina corpuscular media (%), recuento de leucocitos (mm<sup>3</sup>), eosinófilos (mm<sup>3</sup>), basófilos (mm<sup>3</sup>), mielocitos (mm<sup>3</sup>), segmentados (mm<sup>3</sup>), linfocitos (mm<sup>3</sup>), monocitos (mm<sup>3</sup>) y plaquetas (mm<sup>3</sup>).

### **Materiales para la obtención de las muestras**

Alcohol yodado y algodón para desinfección de la zona, 60 tubos al vacío para perfil bioquímico (tapa roja), 60 tubos al vacío con sal tripotásica de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) para la realización de hemograma (tapa lila), 60 tubos al vacío con 7,5 mg oxalato de fluoruro de sodio para determinación de glicemia (tapa gris), 60 agujas para toma múltiple de 21G x 38 mm, adaptador de transferencia de muestra con jeringa a tubo, marcador para identificar los tubos con las respectivas muestras y gradillas, *cooler* y *ice-packs* para la mantención de las muestras.

### **Procedimiento para la toma de muestras**

Para la obtención de las muestras sanguíneas, luego de la selección de individuos que cumplieron con los criterios de inclusión, según evaluación clínica (Anexo 1), se procedió a desinfectar, con alcohol yodado, la zona de punción. La extracción sanguínea se realizó mediante venopunción yugular utilizando agujas de vacío BD Vacutainer® de

21G x 38 mm y el adaptador Vacutainer® de transferencia de muestra, depositando directamente 4 ml en cada tubo BD Vacutainer® (tapa lila, tapa roja y tapa gris). Todas las muestras fueron tomadas en la mañana por el médico veterinario a cargo de los ejemplares, antes de que fueran alimentados y galopados. Todos los animales fueron muestreados descansando en sus pesebreras.

### **Análisis de laboratorio**

El procesamiento y análisis de las muestras estuvo a cargo de la División de Veterinaria del Laboratorio de Química Clínica Especializada (LQCE). El programa de evaluación externa de calidad del área veterinaria del laboratorio estuvo a cargo de PREVECAL, mientras que el control de calidad interno se sustentó en Bio-Rad nivel 1 y nivel 2 (Lyphochek®). En lo que respecta al estudio hematológico; primero se verificó la ausencia de coágulos en la muestra. Luego, se procedió a realizar dos frotis sanguíneos, que una vez teñidos, permitieron realizar el recuento diferencial al microscopio, así como también la caracterización de los elementos figurados. Paralelamente, las muestras fueron procesadas por el contador hematológico (*Counter 19 CP, Wiener®*), obteniendo los parámetros que conforman el hemograma (recuento de eritrocitos, leucocitos, plaquetas, concentración de hemoglobina y constantes hematológicas). Las muestras se procesaron luego de verificar que los controles entregaran resultados dentro de lo establecido. El análisis bioquímico se realizó a 37° C mediante el empleo del equipo automatizado *Biosystems BA-400®*, el cual trabaja por espectrometría con sistema óptico basado en tecnología LED. Antes de procesar las muestras se certificó el equipo utilizando sueros controles multianalitos (Biorad 1 nivel normal y Biorad 2 nivel patológico), a fin de asegurar la fiabilidad de los resultados. El método aplicado para definir cada parámetro se describe a continuación:

- Proteínas totales: Método Colorimétrico (Método Biuret)
- Albúmina: Método Colorimétrico (Verde de Bromocresol).
- Globulinas: Corresponden a la resta de la cantidad de albúmina a las proteínas totales.
- Colesterol: Método enzimático (Colesterol Esterasa, Colesterol Oxidasa + Fenol + 4-Aminoantipirina en presencia de Peroxidasa)
- Calcio: Método colorimétrico directo (Cresolftaleína)
- Fósforo: Método fósforo molibdato UV (Ultravioleta).

- Glucosa: Método enzimático (Glucosa Oxidasa + Fenol + 4-Aminoantipirina en presencia de Peroxidasa).
- NUS (Nitrógeno Ureico Sanguíneo): Método UV a tiempo fijo.
- Creatinina: Método Colorimétrico- Cinético UV (picrato alcalino).
- CK (Creatinquinasa): Método Cinético Enzimático UV optimizado.
- GOT (Transaminasa Oxaloacética): Método Cinético Enzimático UV optimizado.
- GGT (Gamma Glutamil Transferasa): Método UV optimizado.
- FA (Fosfatasa Alcalina): Método Cinético Enzimático (p-nitrofenilfosfato).
- Bilirrubina total: Método Colorimétrico (Ácido Sulfanílico Diazotado).

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico del presente estudio, se llevó a cabo basándose en la “Guía para elaboración de nuevos intervalos de referencia en medicina veterinaria” que permite trabajar en ausencia de normalidad y valida estudios a partir de un tamaño muestral superior a 20 individuos, siendo recomendado un N igual o mayor a 120 (Friedrichs *et al.*, 2012). De acuerdo a esto, inicialmente se determinó el tipo de distribución de los datos, evaluando normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Aquellos datos con distribución no normal, fueron normalizados por el método de logaritmos naturales. Posteriormente, se evaluó la distribución de los datos, identificando visualmente los posibles valores extremos (*outliers*) para cada parámetro, mediante histogramas. Los *outliers* fueron analizados con el algoritmo de Horn, basado en la determinación de los límites intercuartiles de Tukey y eliminados (Friedrichs *et al.*, 2012). Además, se calcularon frecuencias absolutas y relativas para las variables categóricas, medidas de tendencia central (media y mediana) y de variabilidad (desviación estándar) para las variables cuantitativas. Para el cálculo de los intervalos de referencia de las variables con distribución normal y/o normalizada se trabajó con el programa Microsoft Excel® mediante el método de las medias basado en las recomendaciones de la IFCC (Friedrichs *et al.*, 2012). En cuanto a los parámetros que no pudieron ser normalizados, el rango de referencia se estableció mediante el método robusto, con la aplicación de *Bootstrap*, esto se realizó con el *software* estadístico InfoStat®, versión 2008 (Di Rienzo *et al.*, 2008). Con los resultados obtenidos se realizó un estudio comparativo

mediante la prueba t Student (prueba t de dos medias emparejadas) entre los valores obtenidos en el grupo de dos años versus el grupo de tres años, para verificar si existía diferencia significativa entre ellos.

Según lo mencionado, se trabajó con un tamaño muestral igual a 60, considerando la disponibilidad de equinos y teniendo cuenta, que aún con la eliminación de valores aberrantes se logró una población suficiente para dar validez al estudio según la “Guía para elaboración de nuevos intervalos de referencia en medicina veterinaria” (Friedrichs *et al.*, 2012).

## **RESULTADOS**

A continuación, se presentan los resultados obtenidos a partir del análisis de laboratorio y estadístico, de las muestras sanguíneas obtenidas de equinos FSC de dos y tres años de edad hípica, sometidos a entrenamiento y en competencia hípica.

### **Determinación de intervalos de referencia**

#### Hemograma:

Una vez obtenido los valores a partir de la población a estudiar, se ordenaron estos de menor a mayor en una planilla de Microsoft Excel®, para luego identificar los valores aberrantes u *outliers*. En 13 de 13 variables se identificaron, al menos un valor aberrante, y tan solo ocho variables mostraron más de un valor aberrante (VCM, CHCM, leucocitos, eosinófilos, basófilos, baciliformes, segmentados, linfocitos y plaquetas). Debido a la eliminación de estos valores el tamaño muestral se redujo, pero en todos los casos se mantuvo el N sobre lo mínimo planteado por Friedrichs *et al.* El año 2012. Luego de determinar y eliminar los *outliers* se procedió con el análisis de estadística descriptiva, donde se calcularon las medias, mediana, desviación estándar (DE), varianza, valores mínimos y máximos, para cada variable (Tabla Nro.1). En general las medias fueron similares a la mediana lo que refiere una distribución más bien simétrica. Las mayores desviaciones estándar, y, por ende, las mayores varianzas se presentaron en aquellas variables con mayor distancia entre el valor mínimo y máximo (eritrocitos, leucocitos, segmentados, linfocitos y plaquetas).

**Tabla Nro. 1.** Resumen de estadística descriptiva de variables evaluadas en el hemograma equino FSC de dos y tres años de edad (muestra total).

| Variable     | Unidad | N  | Media     | Mediana   | DE*      | Varianza* | Min.      | Máx.      |
|--------------|--------|----|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|-----------|
| Eritrocitos  | mm3    | 59 | 7.772.542 | 7.730.000 | 8,24E+05 | 6,79E+11  | 6.250.000 | 9.970.000 |
| VGA          | %      | 59 | 42,53     | 41,6      | 5,43E+00 | 2,95E+01  | 33,2      | 54,8      |
| Hemoglobina  | %      | 59 | 15,02     | 14,7      | 1,80E+00 | 3,25E+00  | 11,9      | 19,1      |
| VCM          | Ft     | 58 | 54,72     | 55,2      | 2,21E+00 | 4,88E+00  | 50,1      | 58,1      |
| CHbCM        | %      | 57 | 35,3      | 35,3      | 3,10E-01 | 9,00E-02  | 34,6      | 35,9      |
| Leucocitos   | mm3    | 57 | 8.302     | 8.400     | 1,35E+03 | 1,83E+06  | 5.200     | 12.000    |
| Eosinófilos  | mm3    | 57 | 85,28     | 80        | 8,88E+01 | 7,89E+03  | 0         | 312       |
| Basófilos    | mm3    | 57 | 0         | 0         | 0,00E+00 | 0,00E+00  | 0         | 0         |
| Baciliformes | mm3    | 56 | 0         | 0         | 0,00E+00 | 0,00E+00  | 0         | 0         |
| Segmentados  | mm3    | 55 | 5.229     | 5.220     | 7,85E+02 | 6,17E+05  | 3.264     | 6.831     |
| Linfocitos   | mm3    | 57 | 2.892     | 2.788     | 6,57E+02 | 4,32E+05  | 1.680     | 4.472     |
| Monocitos    | mm3    | 49 | 0         | 0         | 0,00E+00 | 0,00E+00  | 0         | 0         |
| Plaquetas    | mm3    | 59 | 169.576   | 145.000   | 5,39E+04 | 2,90E+09  | 58.000    | 265.000   |

N: número de muestras

DE: desviación estándar.

Min: valor mínimo; Máx.: valor máximo.

\*DE y varianza se trabajaron en notación científica.

Luego de calculada la estadística descriptiva, la distribución de los valores fue analizada, para ver cuáles de las variables presentaban una distribución normal y cuáles no, esto se realizó en el *software* estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2008), dónde se aplicó la prueba Shapiro-Wilk. Aquellos parámetros que no fueron normales se normalizaron mediante logaritmos naturales, sin embargo, tres variables permanecieron con distribución no normal (volumen corpuscular medio, eosinófilos y plaquetas). Posteriormente se aplicó el método de las medias ( $m \pm 2DE$ ) con el programa Microsoft Excel®, para calcular los intervalos de referencia, en aquellos valores normales o normalizados. Para aquellos valores con distribución no normal, los IR fueron estimados mediante el método robusto *Bootstrap* con un intervalo de confianza de un 90%. Este procedimiento se realizó con el *software* estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2008). Los resultados que se obtuvieron se muestran en la Tabla Nro. 2.

**Tabla Nro. 2:** Intervalos de Referencia para hemograma de equinos FSC de dos y tres años (muestra total), promedio y distribución de los datos.

| <b>Variable</b>     | <b>Unidad</b> | <b>IR</b>               | <b>Media</b> | <b>Distribución*</b> |
|---------------------|---------------|-------------------------|--------------|----------------------|
| <b>Eritrocitos</b>  | mm3           | 6.125.059 - 9.420.026   | 7.772.542    | Normal               |
| <b>VGA</b>          | %             | 31,66 - 53,39           | 42,53        | Normal               |
| <b>Hemoglobina</b>  | %             | 11,41 - 18,62           | 15,02        | Normal               |
| <b>VCM</b>          | Ft            | 54,26 - 55,17           | 54,72        | No Normal            |
| <b>CHbCM</b>        | %             | 34,69 - 35,91           | 35,3         | Normal               |
| <b>Leucocitos</b>   | mm3           | 5.595,81 - 11.007,7     | 8.302        | Normal               |
| <b>Eosinófilos</b>  | mm3           | 65,49 - 103,94          | 85,28        | No Normal            |
| <b>Basófilos</b>    | mm3           | 0 - 0                   | 0            | Normal               |
| <b>Baciliformes</b> | mm3           | 0 - 0                   | 0            | Normal               |
| <b>Segmentados</b>  | mm3           | 3.658,97 - 6.799,98     | 5.229        | Normal               |
| <b>Linfocitos</b>   | mm3           | 1.578,11 - 4206,77      | 2.892        | Normal               |
| <b>Monocitos</b>    | mm3           | 0 - 0                   | 0            | Normal               |
| <b>Plaquetas</b>    | mm3           | 159.026,27 - 179.315,25 | 169.576      | No Normal            |

IR: Intervalo de Referencia

\*Distribución evaluada luego de eliminación de *outliers* mediante la prueba de Shapiro-Wilk.

### Perfil bioquímico:

Para determinar los IR para perfil bioquímico se utilizó la misma metodología aplicada para el hemograma. Luego de ordenar los valores en orden creciente se identificaron los valores aberrantes (*outliers*). En 15 de 15 variables se identificó, al menos un valor aberrante, y 13 variables mostraron más de un valor aberrante (albúmina, globulina, índice A/G, colesterol, fósforo, glucosa, NUS, creatinina, CK, GOT, GGT, FA y bilirrubina total). Debido a la eliminación de estos valores el tamaño muestral se redujo, pero en todos los casos se mantuvo el N sobre lo mínimo planteado por Friedrichs *et al*, el año 2012. Luego, se procedió con el análisis de estadística descriptiva (Tabla Nro. 3). En general las medias fueron similares a la mediana, reflejando una distribución central. En cuanto a las enzimas (CK, GOT y GGT) todas sus medias fueron levemente mayores a las medianas, lo que quiere decir que más valores se agruparon en la mitad superior de la distribución. Las mayores desviaciones estándar, y, por ende, las mayores varianzas se presentaron en aquellas variables con mayor distancia entre el valor mínimo y máximo (colesterol, glucosa, CK, GOT, GGT y FA).

**Tabla Nro. 3:** Resumen de estadística descriptiva de variables evaluadas en el perfil bioquímico de equinos FSC de dos y tres años de edad (muestra total).

| Variable        | Unidad | N  | Media  | Mediana | DE    | Varianza | Min.  | Máx. |
|-----------------|--------|----|--------|---------|-------|----------|-------|------|
| PT              | g/dl   | 59 | 5,81   | 5,8     | 0,32  | 0,1      | 5,1   | 6,5  |
| Albúmina        | g/dl   | 58 | 4,1    | 4,1     | 0,18  | 0,03     | 3,8   | 4,5  |
| Globulinas      | g/dl   | 58 | 1,71   | 1,7     | 0,26  | 0,07     | 1,2   | 2,3  |
| Índice A/G      | -      | 58 | 2,45   | 2,46    | 0,39  | 0,16     | 1,74  | 3,39 |
| Colesterol      | mg/dl  | 54 | 97,98  | 97,5    | 13,11 | 171,87   | 73    | 130  |
| Calcio          | mg/dl  | 59 | 12,41  | 12,5    | 0,88  | 0,77     | 10,7  | 14   |
| Fósforo         | mg/dl  | 56 | 4,03   | 4,1     | 0,46  | 0,21     | 3     | 5,1  |
| Glucosa         | mg/dl  | 58 | 91,62  | 90      | 8,18  | 66,87    | 74    | 115  |
| NUS             | mg/dl  | 54 | 11,02  | 10,9    | 1,85  | 3,43     | 7,6   | 15,9 |
| Creatinina      | mg/dl  | 58 | 1,5    | 1,52    | 0,23  | 0,06     | 0,88  | 1,97 |
| CK              | U/L    | 52 | 180,94 | 160,5   | 55    | 3.025,15 | 108   | 350  |
| GOT             | U/L    | 55 | 343,75 | 324     | 98,71 | 9.743,12 | 114   | 595  |
| GGT             | U/L    | 56 | 27,06  | 25,25   | 10,34 | 106,91   | 14,8  | 54,4 |
| FA              | U/L    | 58 | 395,32 | 388,5   | 97,24 | 9.456,02 | 135,2 | 676  |
| <b>B. Total</b> | mg/dl  | 58 | 2,94   | 2,91    | 0,62  | 0,38     | 1,81  | 4,38 |

N: número de muestras.

DE: desviación estándar.

Min: valor mínimo; Máx: valor máximo.

Una vez calculadas las medidas de resumen de estadística descriptiva, se identificaron aquellas variables que presentaban una distribución normal y aquellas que no, mediante la prueba Shapiro-Wilk. Al aplicar el método de logaritmos naturales, cinco variables permanecieron con distribución no normal (albúmina, calcio, CK, GOT y GGT). Posteriormente se calcularon los IR dependiendo del tipo de distribución. Se utilizó el método de las medias ( $m \pm 2DE$ ) en aquellos valores normales. En los parámetros con distribución no normal, los IR fueron estimados mediante el método robusto *Bootstrap* mediante el *software* estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2008). Los resultados que se obtuvieron se muestran en la Tabla Nro. 4.

**Tabla Nro. 4:** Intervalos de Referencia para perfil bioquímico de equinos FSC de dos y tres años de edad (muestra total), promedio y distribución de los datos.

| Variable          | Unidad | IR              | Media  | Distribución* |
|-------------------|--------|-----------------|--------|---------------|
| <b>PT</b>         | g/dl   | 5,18 - 6,45     | 5,81   | Normal        |
| <b>Albúmina</b>   | g/dl   | 4,0 - 4,05      | 4,1    | No Normal     |
| <b>Globulinas</b> | g/dl   | 1,19 - 2,23     | 1,71   | Normal        |
| <b>Índice A/G</b> | -      | 1,66 - 3,24     | 2,45   | Normal        |
| <b>Colesterol</b> | mg/dl  | 71,76 - 124,20  | 97,98  | Normal        |
| <b>Calcio</b>     | mg/dl  | 12,32 - 12,69   | 12,41  | No Normal     |
| <b>Fósforo</b>    | mg/dl  | 3,11 - 4,94     | 4,03   | Normal        |
| <b>Glucosa</b>    | mg/dl  | 75,27 - 107,98  | 91,62  | Normal        |
| <b>NUS</b>        | mg/dl  | 7,32 - 14,73    | 11,02  | Normal        |
| <b>Creatinina</b> | mg/dl  | 1,03 - 1,97     | 1,5    | Normal        |
| <b>CK</b>         | U/L    | 169,71 - 193,92 | 180,94 | No Normal     |
| <b>GOT</b>        | U/L    | 323,37 - 364,06 | 343,75 | No Normal     |
| <b>GGT</b>        | U/L    | 24,45 - 29,10   | 27,06  | No Normal     |
| <b>FA</b>         | U/L    | 200,83 - 589,80 | 395,32 | Normal        |
| <b>B. Total</b>   | mg/dl  | 1,70 - 4,18     | 2,94   | Normal        |

IR: Intervalo de Referencia

\*Distribución evaluada luego de eliminación de *outliers* mediante la prueba de Shapiro-Wilk.

## **Determinación de intervalos de referencia según edad**

Posterior a determinar los IR para perfil bioquímico y hemograma en equinos Fina Sangre de Carrera de dos y tres años de edad, sometidos a entrenamiento, en la región Metropolitana, se procedió a segregar el grupo según edad: ejemplares de dos años (un año de entrenamiento) y de tres años (dos años de entrenamiento). En estos dos grupos de equinos se calcularon los IR para hemograma y perfil bioquímico sanguíneo. Cabe mencionar, que al realizar particiones el tamaño de la muestra disminuyó a 30 individuos por grupo.

### Hemograma:

Para determinar los IR se utilizó la misma metodología aplicada para la muestra total. Con los valores ya ordenados se identificaron los valores aberrantes (*outliers*). En el grupo de dos años, cuatro de 13 variables presentaron al menos un valor aberrante (VCM, eosinófilos, baciliformes y segmentados), y en el grupo de tres años, todas las variables mostraron al menos un valor aberrante (eritrocitos, VGA, hemoglobina, VCM, CHbCM, leucocitos, eosinófilos, basófilos, baciliformes, segmentados, linfocitos, monocitos y plaquetas). Luego, se procedió con el análisis de estadística descriptiva. En general, las medias fueron similares a la mediana. En el grupo de dos años tanto monocitos como eosinófilos tuvieron una mediana de 0, con una media muy superior. En los leucocitos la media fue levemente inferior a la mediana y en los linfocitos ocurrió lo contrario, la media fue levemente superior a la mediana. En el grupo de tres años los leucocitos y linfocitos presentaron una media levemente superior a la mediana, lo que quiere decir que la mayoría de los valores se agruparon en la mitad superior de la distribución. Las mayores desviaciones estándar, y, por ende, las mayores varianzas se presentaron en aquellas variables con mayor distancia entre el valor mínimo y máximo (eritrocito, leucocito, segmentados, linfocitos y plaquetas) en ambos grupos. Calculada la estadística descriptiva, se identificaron aquellas variables que presentaban una distribución normal y aquellas que no, mediante la prueba Shapiro-Wilk. En el grupo de dos años tres parámetros mostraron distribución no normal (eosinófilos, monocitos y plaquetas) y en el grupo de tres años dos variables mostraron distribución no normal (VCM y eosinófilos) de 13 variables en total. A continuación, se determinaron los IR para cada variable utilizando la forma adecuada según

el tipo de distribución (normal o no normal). Los resultados que se obtuvieron se muestran en la Tabla Nro. 5.

**Tabla Nro. 5:** Intervalos de Referencia para hemograma de equinos FSC de dos y tres años de edad, sometidos a diferentes períodos de entrenamiento (uno y dos años respectivamente).

| Variable            | Dos años  |                       | Tres años |                        |
|---------------------|-----------|-----------------------|-----------|------------------------|
|                     | Media     | IR                    | Media     | IR                     |
| <b>Eritrocitos</b>  | 7.675.667 | 6.123.612 - 9.227.721 | 7.872.759 | 6.127.611 - 9.617.906  |
| <b>VGA</b>          | 41,79     | 31,05 - 52,53         | 43,29     | 32,31 - 54,27          |
| <b>Hemoglobina</b>  | 14,78     | 11,24 - 18,33         | 15,26     | 11,6 - 18,92           |
| <b>VCM</b>          | 54,62     | 50,48 - 58,76         | 54,98     | 54,06 - 55,44          |
| <b>CHbCM</b>        | 35,37     | 34,69 - 36,05         | 35,26     | 34,63 - 35,89          |
| <b>Leucocitos</b>   | 8.207     | 5.751,59 - 10.661,74  | 8.531     | 5.772,35 - 11.289,19   |
| <b>Eosinófilos</b>  | 70,69     | 40,85 - 97,57         | 92,56     | 67,79 - 115,14         |
| <b>Basófilos</b>    | 0         | 0 - 0                 | 0         | 0 - 0                  |
| <b>Baciliformes</b> | 0         | 0 - 0                 | 0         | 0 - 0                  |
| <b>Segmentados</b>  | 5.380     | 4.045,24 - 6.714,19   | 5.064     | 3.269,35 - 6.859,61    |
| <b>Linfocitos</b>   | 2.850     | 1.391,56 - 4.309,31   | 2.939     | 1.786,03 - 4.092,19    |
| <b>Monocitos</b>    | 37,2      | 22,96 - 55,78         | 0         | 0 - 0                  |
| <b>Plaquetas</b>    | 209.467   | 194.785 - 221.041,67  | 130.821   | 98.057,16 - 163.585,70 |

IR: Intervalo de Referencia

## Perfil bioquímico

Para determinar los IR para perfil bioquímico según edad, se utilizó la misma metodología aplicada para la muestra total. Con los valores ya ordenados se identificaron los valores aberrantes (*outliers*). En el grupo de dos años 10 de 15 variables presentaron al menos un valor aberrante (PT, globulina, colesterol, glucosa, NUS, creatinina, CK, GOT, GGT y bilirrubina total), y en el grupo de tres años todas las variables mostraron al menos un valor aberrante (PT, albúmina, globulinas, índice A/G, colesterol, calcio, fósforo, glucosa, NUS, creatinina, CK, GOT, GGT, FA, bilirrubina total). En el análisis de estadística descriptiva se observaron medias y medianas similares para los parámetros de ambos grupos. Las mayores desviaciones estándar y varianzas se presentaron en colesterol, glucosa, CK, GOT, GGT y FA en ambos grupos. La prueba Shapiro-Wilk, y la posterior normalización mediante logaritmos naturales, arrojó que, en el grupo de dos años, dos parámetros mostraron distribución no normal (CK, GGT) y en el grupo de tres años, seis variables mostraron distribución no normal (albúmina, globulina, calcio, fósforo, CK y GGT) de 15 variables en total. En base a esto, se determinaron los IR utilizando el método de las medias o *bootstrap*. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla Nro.6.

**Tabla Nro. 6:** Intervalos de Referencia para perfil bioquímico de equinos FSC de dos y tres años de edad, sometidos a diferentes periodos de entrenamiento (uno y dos años respectivamente).

| Variable          | Dos años |                 | Tres años |                 |
|-------------------|----------|-----------------|-----------|-----------------|
|                   | Media    | IR              | Media     | IR              |
| <b>PT</b>         | 5,79     | 5,40 - 6,19     | 5,83      | 5,07 - 6,59     |
| <b>Albúmina</b>   | 4,14     | 3,84 - 4,44     | 4,06      | 4 - 4,08        |
| <b>Globulinas</b> | 1,64     | 1,24 - 2,05     | 1,76      | 1,68 - 1,92     |
| <b>Índice A/G</b> | 2,53     | 1,76 - 3,29     | 2,36      | 1,57 - 3,15     |
| <b>Colesterol</b> | 100,62   | 67,28 - 133,96  | 94,18     | 68,07 - 120,28  |
| <b>Calcio</b>     | 12,33    | 11,36 - 13,29   | 12,49     | 12,22 - 12,91   |
| <b>Fósforo</b>    | 4,11     | 3,16 - 5,06     | 3,78      | 3,58 - 3,98     |
| <b>Glucosa</b>    | 91       | 76,19 - 105,81  | 91,43     | 75,48 - 107,38  |
| <b>NUS</b>        | 11,91    | 7,17 - 16,65    | 10,76     | 6,69 - 14,83    |
| <b>Creatinina</b> | 1,39     | 0,98 - 1,81     | 1,61      | 1,18 - 2,04     |
| <b>CK</b>         | 205,78   | 182,18 - 230,05 | 165,35    | 150,24 - 181,37 |
| <b>GOT</b>        | 328,8    | 182,67 - 474,93 | 339,64    | 138,7 - 540,58  |
| <b>GGT</b>        | 25,74    | 22,9 - 28,19    | 27,43     | 24,38 - 30,50   |
| <b>FA</b>         | 398,79   | 242,05 - 555,54 | 391,59    | 160,62 - 622,57 |
| <b>B. Total</b>   | 2,7      | 1,87 - 3,52     | 3,08      | 1,77 - 4,40     |

IR: Intervalo de Referencia

### Comparación de intervalos de referencia los diferentes grupos etarios.

Elaborados los IR para hemograma y perfil bioquímico sanguíneo según edad/tiempo de entrenamiento, se aplicó la prueba t para medias de dos muestras emparejadas con un valor crítico de t (dos colas) igual a 12,71. Los resultados de esta prueba no reflejaron diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los parámetros, como se muestra en la Tabla Nro. 7 y Tabla Nro. 8. Pese a estos resultados, se puede observar en el hemograma que el IR para eosinófilos, tanto en su límite inferior como superior, es mayor en el grupo de tres años. En el caso de monocitos, sólo se evidenciaron en el grupo de dos años. En el perfil bioquímico, tanto la creatinina (límite superior e inferior) como la bilirrubina total (límite superior), son mayores en el grupo de tres años. La creatinquinasa (CK) el límite inferior y el límite superior del IR fueron menores en el grupo de tres años, tanto así que no comparten valores dentro de sus respectivos rangos.

**Tabla Nro. 7:** Comparación entre los Intervalos de Referencia de hemograma según equinos FSC sometidos a distinto tiempo de entrenamiento.

| Variable            | Dos años  |                       | Tres años |                        | Estadístico T |
|---------------------|-----------|-----------------------|-----------|------------------------|---------------|
|                     | Media     | IR                    | Media     | IR                     |               |
| <b>Eritrocitos</b>  | 7.675.667 | 6.123.612 - 9.227.721 | 7.872.759 | 6.127.611 - 9.617.906  | -1,021        |
| <b>VGA</b>          | 41,79     | 31,05 - 52,53         | 43,29     | 32,31 - 54,27          | -6,258        |
| <b>Hemoglobina</b>  | 14,78     | 11,24 - 18,33         | 15,26     | 11,6 - 18,92           | -4,210        |
| <b>VCM</b>          | 54,62     | 50,48 - 58,76         | 54,98     | 54,06 - 55,44          | -0,037        |
| <b>CHbCM</b>        | 35,37     | 34,69 - 36,05         | 35,26     | 34,63 - 35,89          | 2,200         |
| <b>Leucocitos</b>   | 8.207     | 5.751,59 - 10.661,74  | 8.531     | 5.772,35 - 11.289,19   | -1,068        |
| <b>Eosinófilos</b>  | 70,69     | 40,85 - 97,57         | 92,56     | 67,79 - 115,14         | -4,700        |
| <b>Basófilos</b>    | 0         | 0 - 0                 | 0         | 0 - 0                  | iguales       |
| <b>Baciliformes</b> | 0         | 0 - 0                 | 0         | 0 - 0                  | iguales       |
| <b>Segmentados</b>  | 5.380     | 4.045,24 - 6.714,19   | 5.064     | 3.269,35 - 6.859,61    | 0,684         |
| <b>Linfocitos</b>   | 2.850     | 1.391,56 - 4.309,31   | 2.939     | 1.786,03 - 4.092,19    | -0,289        |
| <b>Monocitos</b>    | 37,2      | 22,96 - 55,78         | 0         | 0 - 0                  | 2,390         |
| <b>Plaquetas</b>    | 209.467   | 194.785 - 221.041,67  | 130.821   | 98.057,16 - 163.585,70 | 3,926         |

IR: Intervalo de Referencia

Valor crítico de t (dos colas): 12,71

**Tabla Nro. 8:** Comparación entre los Intervalos de Referencia de perfil bioquímico según equinos FSC sometidos a distinto tiempo de entrenamiento.

| Variable        | Dos años |                 | Tres años |                 | Estadístico<br>t |
|-----------------|----------|-----------------|-----------|-----------------|------------------|
|                 | Media    | IR              | Media     | IR              |                  |
| PT              | 5,79     | 5,40 - 6,19     | 5,83      | 5,07 - 6,59     | -0,10            |
| Albúmina        | 4,14     | 3,84 - 4,44     | 4,06      | 4 - 4,08        | 0,37             |
| Globulinas      | 1,64     | 1,24 - 2,05     | 1,76      | 1,68 - 1,92     | -0,54            |
| Índice A/G      | 2,53     | 1,76 - 3,29     | 2,36      | 1,57 - 3,15     | 6,54             |
| Colesterol      | 100,62   | 67,28 - 133,96  | 94,18     | 68,07 - 120,28  | 0,89             |
| Calcio          | 12,33    | 11,36 - 13,29   | 12,49     | 12,22 - 12,91   | -0,38            |
| Fósforo         | 4,11     | 3,16 - 5,06     | 3,78      | 3,58 - 3,98     | 0,44             |
| Glucosa         | 91       | 76,19 - 105,81  | 91,43     | 75,48 - 107,38  | -0,38            |
| NUS             | 11,91    | 7,17 - 16,65    | 10,76     | 6,69 - 14,83    | 1,71             |
| Creatinina      | 1,39     | 0,98 - 1,81     | 1,61      | 1,18 - 2,04     | -11,68           |
| CK              | 205,78   | 182,18 - 230,05 | 165,35    | 150,24 - 181,37 | 4,82             |
| GOT             | 328,8    | 182,67 - 474,93 | 339,64    | 138,7 - 540,58  | -0,20            |
| GGT             | 25,74    | 22,9 - 28,19    | 27,43     | 24,38 - 30,50   | -4,08            |
| FA              | 398,79   | 242,05 - 555,54 | 391,59    | 160,62 - 622,57 | 0,10             |
| <b>B. Total</b> | 2,7      | 1,87 - 3,52     | 3,08      | 1,77 - 4,40     | -0,78            |

IR: Intervalo de Referencia

Valor crítico de t (dos colas): 12,71

## DISCUSIÓN

El presente estudio tuvo como objetivo determinar los valores normales de hemograma y perfil bioquímico sanguíneo en equinos FSC de dos y tres años, sometidos a entrenamiento, con el fin de disponer de valores de referencia que puedan ser útiles en la práctica clínica equina en este tipo de animales. Dentro del análisis de los resultados, llama la atención ciertos parámetros que se relacionan principalmente, con el tipo de distribución no normal, a los cuales se les aplicó el método robusto de *bootstrap* para el cálculo de los respectivos IR, tal como se plantea en la “Guía para elaboración nuevos intervalos de referencia en medicina veterinaria” (Friedrichs *et al.*, 2012). Los IR elaborados en base a éste método arrojó rangos sumamente ajustados. Esta situación se presentó para perfil bioquímico sanguíneo en: albúmina (4,0 – 4,5 g/dl), calcio (12,32 – 12,69 mg/dl), CK (168,71 – 193,92 U/L), GOT (323,37 – 364,06 U/L) y GGT (24,45 – 29,1 U/L). Para hemograma en: VCM (54,26 – 55,17 Ft), eosinófilos (65,49 – 103,94 mm<sup>3</sup>) y plaquetas (159.026 – 179.315 mm<sup>3</sup>). Dado lo anterior, se decidió calcular nuevamente los IR para los parámetros mencionados, pero esta vez utilizando el método de las medias y se obtuvo los siguientes valores para perfil bioquímico sanguíneo: albúmina (3,74 – 4,47 g/dl), calcio (10,65 – 14,16 mg/dl), CK (70,94 – 290,95 U/L), GOT (146,33 – 541,16 U/L) y GGT (6,38 – 47,74 U/L). Para hemograma: VCM (50,30 – 59,14 ft), eosinófilos (0,0 – 262,92 mm<sup>3</sup>) y plaquetas (61.781 – 277.371 mm<sup>3</sup>). Al realizar este ejercicio, se puede deducir que los IR generados a partir del método de las medias, serían más concluyentes y tendrían más relación, tanto con la población muestral (Anexo 2 y 3), ya que una mayor cantidad de los ejemplares muestreados estarían dentro de rango, lo que coincide con estudios anteriores (Duncan y Prasse, 1986; Kaneko *et al.*, 1997). Esto deja en evidencia que al momento de la interpretación y evaluación clínica se debe tener en consideración lo expuesto, utilizando el criterio médico para discernir entre los IR calculados por el método robusto de *bootstrap* y método de las medias.

Con respecto a la comparación entre los dos grupos propuestos en este estudio, ejemplares equinos de dos años de edad (sometidos a un año de entrenamiento) y tres años de edad (sometidos a dos años de entrenamiento), no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas, rechazándose la hipótesis de que “Existen diferencias estadísticamente significativas entre alguno/s de los intervalos de referencia de los parámetros evaluados en el perfil bioquímico y hemograma de equinos FSC, sometidos a dos periodos distintos de entrenamiento”. Por lo tanto, se podría asumir que un caballo en competencia hípica, sometido a un mayor tiempo de entrenamiento llegaría a un límite en sus adaptaciones fisiológicas sanguíneas al ejercicio. Esto coincide con lo descrito por Clarkson, en 1968, quien señala que los cambios en el volumen globular aglomerado serían evidentes a partir de la semana 1 a la semana 7 de entrenamiento, pero no existirían cambios luego de las 32 semanas de entrenamiento. Lo anteriormente expuesto, no quiere decir que no haya un aumento en el rendimiento asociado con el entrenamiento, debido a que existen otros cambios fisiológicos, no sanguíneos, que se relacionan aún más con el rendimiento deportivo, como lo son la capacidad respiratoria, capacidad cardíaca, capacidad muscular, entre otros (Martínez, 2013).

Al contrastar los resultados de este estudio con los reportados en la literatura, enfocados a equinos en general, sin especificar edad, raza, ni uso (Duncan y Prasse, 1986; Kaneko *et al.*, 1997), se puede observar que los IR elaborados para VGA en el hemograma, y albúmina, enzimas séricas (FA, GGT, GOT) y bilirrubina total en el perfil bioquímico, fueron mayores para animales FSC entre dos y tres años de edad sometidos al tipo de entrenamiento descrito en este trabajo. En cambio, los IR para globulinas, fueron menores a lo reportado por la literatura (Kaneko *et al.*, 1997).

En lo que respecta al hemograma de equinos FSC de dos y tres años de edad, sometidos a entrenamiento, se calculó un IR para VGA de 31,6 – 53,4 %, que al contrastarlo con lo que plantea la literatura para la especie equina (32 – 48%) (Duncan y Prasse, 1986), se puede apreciar que el rango superior obtenido en el estudio realizado es cinco puntos mayor. Este resultado es esperable, ya que se ha visto en estudios longitudinales, que el entrenamiento produce un incremento en el volumen globular aglomerado en el hemograma de rutina (McGowan *et al.*, 1999), lo que se traduce en una mayor capacidad de transporte de

oxígeno. Este hecho resulta especialmente importante, toda vez que el principal recurso energético para usar en la carrera debe ser el ATP originado en la fosforilación oxidativa mitocondrial (Martínez, 2013).

En cuanto al perfil bioquímico cabe destacar que la albúmina en este estudio es muy superior (3,74 – 4,47 g/dl) en comparación a lo que dice Kaneko *et al.*, (1997) (2,6 – 3,7 g/dl), pero concuerda con los resultados obtenidos por Rojas (2009) (3,65 – 4,15 g/dl). Dado que las globulinas se obtienen mediante la resta de la albúmina a las PPT (proteínas plasmáticas totales), es de esperar que a las globulinas les ocurra todo lo contrario, es decir, que el recuento total de globulinas sea menor. Los nuevos IR elaborados para globulinas van desde 1,19 – 2,23 g/dl, mientras que Kaneko *et al.*, (1997) propone un IR de 2,6 – 3,7 g/dl y Rojas el 2009 propone para FSC, un IR de 2,4 – 3,2 g/dl. Es así como se aprecia, que los niveles de globulinas calculados en este estudio no sólo son menores a lo planteado por la literatura de referencia, sino que, además, no comparten ningún valor. Según Rudolph (2003), las hipoglobulinemia con relación A/G aumentada sólo se pueden observar en animales neonatos antes de que consuman el calostro, situación que no se relaciona con la población analizada en este estudio. No se encontró bibliografía que reporte valores de globulinas como las obtenidas en este estudio en equinos clínicamente sanos. Por lo mismo, sería interesante realizar una electroforesis con el fin de evaluar los tipos de globulinas presentes y sus concentraciones para llegar a una conclusión más acabada sobre el motivo de las bajas concentraciones.

Esta dinámica de proteínas, se traduce en un índice A/G muy elevado que llama particularmente la atención (1,6 – 3,2).

En el caso de las enzimas séricas, el IR obtenido para GOT (146,3 – 541,1 U/L) fue mayor en su límite superior a lo publicado por Kaneko *et al.* en 1997 (226 – 366 U/L). La enzima transaminasa oxaloacética (GOT) se encuentra en muchos órganos, dentro de ellos, en músculo esquelético y cardiaco (Harris *et al.*, 1998). La concentración sérica de la enzima GOT, puede permanecer aumentada por varios días luego de alguna injuria. Debido a su escasa especificidad, la dinámica de la GOT debe ser siempre interpretada en conjunto con la actividad sérica de la enzima creatinquinasa (McKenzie, 2014). En base a lo anterior, se

podría deducir que los resultados obtenidos en este estudio estarían relacionados con que los ejemplares muestreados permanecían sometidos a entrenamiento diario, y como plantea Bayly *et al.* el 2007, es esperable encontrar elevaciones séricas normales de AST (GOT) post ejercicio.

Tanto la GGT (6,3 – 47,7 U/L), como la bilirrubina total (1,7 – 4,2 mg/dl) arrojaron resultados mayores que los que describe la literatura (GGT: 4,3 – 13,4 U/L; bilirrubina total: 0,3 – 3,0 mg/dl) (Kaneko *et al.*, 1997). La bibliografía describe que en equinos entrenados en *treadmill*, se visualizan incrementos de GGT desde un valor medio de 14 unidades por litro (U/L) (antes del entrenamiento), hasta 51 U/L luego de cuatro meses de entrenamiento, y de 70 U/L en caballos sobre-entrenados después de 32 semanas (Snow *et al.*, 1988). La significancia de estos cambios no es clara; sin embargo, se ha intentado conectar el incremento sérico de la enzima GGT y de la bilirrubina total, con situaciones de sobre entrenamiento o síndromes de bajo rendimiento, sin disponer a la fecha de conclusiones claras al respecto (McKenzie, 2014).

Para la Fosfatasa alcalina los IR (200,8 – 589 U/L) fueron superiores a lo reportado por Kaneko *et al.* en 1997 (70 – 226,8 U/L). Esta enzima se encuentra en casi todos los tejidos del organismo, pero es mayor su presencia en hígado, vías biliares y huesos, siendo éste último una de las mayores fuentes de FA, por ello, en individuos en desarrollo óseo esta enzima esta normalmente elevada (Kaneko *et al.*, 1997), donde además un mayor IR puede ser resultado de aumentos temporales de la isoenzima ósea en caballos de dos y tres años de edad como consecuencia del entrenamiento (Thoren *et al.*, 1983). También podría relacionarse aumentos de FA con aumentos de la BT en caso da alguna alteración hepática o canalicular, pero habría que medir bilirrubina conjugada para llegar a una conclusión mas acabada.

Finalmente, cabe mencionar que los resultados obtenidos en este estudio quedan a disposición de los médicos veterinarios y futuras líneas investigativas. Se reitera la importancia de considerar los IR obtenidos a partir de *bootstrap* y por el método de las medias, en aquellos parámetros que contaron con una distribución no normal.

## CONCLUSIONES

- Mediante la metodología analítica y estadística empleada fue posible determinar intervalos de referencia para perfil bioquímico sanguíneo y hemograma de equinos Fina Sangre de Carrera (FSC) de dos y tres años de edad hípica, sometidos a entrenamiento y en competencia hípica, ubicados en la Región Metropolitana de Chile.
- Los intervalos de referencia elaborados en este estudio para perfil bioquímico sanguíneo y hemograma de equinos FSC según la variable edad/tiempo de entrenamiento (dos y tres años) sometidos a entrenamiento y en competencia hípica, corresponden a datos preliminares debido al reducido tamaño muestral utilizado.
- Los intervalos de referencia de los distintos grupos etarios, dos y tres años, para perfil bioquímico sanguíneo y hemograma de equinos FSC, sometidos a distinto tiempo de entrenamiento (uno y dos años), no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre sí.

## **BIBLIOGRAFÍA**

**BAYLY, W.; KLINE, K.** 2007. Respuesta y adaptación: Hematología y bioquímica. **In:** Boffi, F. Fisiología del ejercicio en equinos. Inter-Médica. Buenos Aires, Argentina. pp. 145-151.

**CLARKSON, G.** 1968. Haematology and serum iron in the racehorse. Tesis Master de estudios de veterinaria. Melbourne, Australia. University of Melbourne. 151 p.

**DI RIENZO, J.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C.** 2008. InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

**DUNCAN, J.; PRASSE, K.** 1986. Veterinary Laboratory Medicine, 2nd ed. Ames, IA: Iowa State University Press. 105-144 p.

**EVANS, D.L.; HARRIS, R.C.; D.H. SNOW,** 1993. Correlation of racing performance with blood lactate and heart rate after exercise **in:** Thoroughbred horses, *Equine Vet. J.* 25:441-445.

**FAZIO, F.; ASSENZA, A.; TOSTO, F.; CASELLA, S.; PICCIONE, G.; CAOLA, G.** 2011. Training and Haematochemical Profile in Thoroughbreds and Standardbreds: A longitudinal Study. *Livestock Science* 141: 221–226.

**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. *Vet. Clin. Pathol.* 41 (4): 441-453.

**GÓMEZ, J.; BUSTINZA, E.; HUARACHI, A.** 2003. Valores de referencia de algunas pruebas bioquímicas y hematológicas. *Rev. Mex. Patol. Clin.* 50 (1): 41-49.

**HARRIS, P.A.; MARLIN, D.J.; GRAY, J.** 1998. Plasma aspartate aminotransferase and creatin kinase activities in thoroughbred racehorses in relation to age, sex, exercise and training. *Vet J.* 155:295-304.

**HINCHCLIFF, K.; GEOR, R.** 2004. Integrative physiology of exercise. In: Hinchcliff, K.; Kaneps, A.; Geor, R. equine sports and surgery. 2<sup>a</sup> ed. pp. 3–8.

**JUDSON, G.; MOONEY, G.; THORNBURY, R.** 2008. Plasma biochemical values in Thoroughbred Horses in Training. In: Kenneth, W.; Raymond, J.; Andris, J. Equine Exercise Physiology. Elsevier Ltd. pp. 354-361.

**KANEKO, J.; HARVEY, J.; BRUSS, M.** 1997. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 5 ed., Academic Press USA. San Diego CA, USA. 890-905 p.

**KEDZIERSKI, W.; BERGERO, D.; ASSENZA, A.** 2009. Trends of hematological and biochemical values in the blood of young race horses during standardized field exercise tests. *Acta Veterinaria (Beograd)*. 59 (5-6): 457-466.

**MARTINEZ, R.** 2013. Bases fisiológicas para la interpretación de la respuesta equina al ejercicio. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 55p.

**MARTINS, C.; OROZCO, C.A.G.; D'ANGELIS, F.H.F.; FREITAS, E.V.V.; CHRISTOVÃO, F.G.; QUEIROZ-NETO, A.; LACERDA NETO, J.C.** 2005. Determinação de variáveis bioquímicas em equinos antes e após a participação em prova de enduro. *Rev. Bras. Ciênc. Vet.* 12: 62–65.

**MCGOWAN, C.; GOLLAND, L.; EVANS, D.** 1999. Haematological and biochemical response to training and overtraining. *Equine. Vet. J.* 30: 621–625.

**MCKENZIE, E.** 2014. Hematology and serum biochemistry of the equine athlete **in:** Hinchcliff, K.; Kaneps, A.; Geor, R. equine sports and surgery. 2<sup>a</sup> ed. pp. 921–930.

**MILNE, D.** 1982. Biochemical parameters for assesment of conditioning in the horse, Proc. Am. Assoc. Equine. Pract. 28: 49–53.

**PICCIONE, G.; CASELLA, S.; GIANNETTO, C.; MESSINA, V.; MONTEVERDE, V.; CAOLA, G.; GUTTADAURO, S.** 2010. Haematological and haematochemical responses to training and competition in Standardbred horses. Comp. Clin. Pathol. 19: 95–101.

**ROJAS, A.** 2009. Concentración de proteínas sanguíneas en equinos fina sangre de carrera en entrenamiento, afectados por hemorragia pulmonar inducida por ejercicio. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Medicina Veterinaria. 23 p.

**RUDOLPH, W.** 2003. Manual de bioquímica clínica animal. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias, Depto. Patología Animal. 23 p.

**SNOW, D.; HARRIS, P.** 1988. Enzymes as markers of physical fitness and training of racing horses. Adv. Clin. Enzymol. 6: 251–258.

**THOREN, K.** 1983. The influence of training on serum ALP isoenzyme activities in Young horses. In: Proc. First Internat. Conference ACB. Alemania. pp. 134–140

## ANEXOS

### Anexo 1:

#### Ficha Clínica Equinos en Estudio

Nro. Ficha:

Fecha:

Predio:

Identificación del Paciente:

Edad hípica:

Sexo:

EXAMEN CLÍNICO:

- Actitud:
- Mucosas:
- T.L.L.C.: \_\_\_\_\_"
- Pliegue cutáneo: \_\_\_\_\_"
- Frecuencia cardíaca: \_\_\_\_\_ lpm
- Frecuencia respiratoria: \_\_\_\_\_ rpm
- Temperatura rectal: \_\_\_\_\_ °C

Observaciones:

.....

.....

.....

.....

## Anexo 2:

Intervalos de Referencia para hemograma de equinos FSC de dos y tres años (muestra total), promedio y distribución de los datos.

| Variable            | Unidad          | IR                    | Media     | Distribución* |
|---------------------|-----------------|-----------------------|-----------|---------------|
| <b>Eritrocitos</b>  | mm <sup>3</sup> | 6.125.059 - 9.420.026 | 7.772.542 | Normal        |
| <b>VGA</b>          | %               | 31,66 - 53,39         | 42,53     | Normal        |
| <b>Hemoglobina</b>  | %               | 11,41 - 18,62         | 15,02     | Normal        |
| <b>VCM</b>          | Ft              | 50,30 - 59,14 *       | 54,72     | No Normal     |
| <b>CHbCM</b>        | %               | 34,69 - 35,91         | 35,3      | Normal        |
| <b>Leucocitos</b>   | mm <sup>3</sup> | 5.595,81 - 11.007,7   | 8.302     | Normal        |
| <b>Eosinófilos</b>  | mm <sup>3</sup> | 0 - 262,92 *          | 85,28     | No Normal     |
| <b>Basófilos</b>    | mm <sup>3</sup> | 0 - 0                 | 0         | Normal        |
| <b>Baciliformes</b> | mm <sup>3</sup> | 0 - 0                 | 0         | Normal        |
| <b>Segmentados</b>  | mm <sup>3</sup> | 3.658,97 - 6.799,98   | 5.229     | Normal        |
| <b>Linfocitos</b>   | mm <sup>3</sup> | 1.578,11 - 4206,77    | 2.892     | Normal        |
| <b>Monocitos</b>    | mm <sup>3</sup> | 0 - 0                 | 0         | Normal        |
| <b>Plaquetas</b>    | mm <sup>3</sup> | 61.781 - 277.371 *    | 169.576   | No Normal     |

IR: Intervalo de Referencia

Distribución evaluada luego de eliminación de *outliers* mediante la prueba de Shapiro-Wilk.

\* Valores recalculados mediante el método de las medias

### Anexo 3

Intervalos de Referencia para perfil bioquímico de equinos FSC de dos y tres años de edad (muestra total), promedio y distribución de los datos.

| Variable        | Unidad | IR                | Media  | Distribución* |
|-----------------|--------|-------------------|--------|---------------|
| PT              | g/dl   | 5,18 - 6,45       | 5,81   | Normal        |
| Albúmina        | g/dl   | 3,74 - 4,47 *     | 4,1    | No Normal     |
| Globulinas      | g/dl   | 1,19 - 2,23       | 1,71   | Normal        |
| Índice A/G      | -      | 1,66 - 3,24       | 2,45   | Normal        |
| Colesterol      | mg/dl  | 71,76 - 124,20    | 97,98  | Normal        |
| Calcio          | mg/dl  | 10,65 - 14,16 *   | 12,41  | No Normal     |
| Fósforo         | mg/dl  | 3,11 - 4,94       | 4,03   | Normal        |
| Glucosa         | mg/dl  | 75,27 - 107,98    | 91,62  | Normal        |
| NUS             | mg/dl  | 7,32 - 14,73      | 11,02  | Normal        |
| Creatinina      | mg/dl  | 1,03 - 1,97       | 1,5    | Normal        |
| CK              | U/L    | 70,94 - 290,95 *  | 180,94 | No Normal     |
| GOT             | U/L    | 146,33 - 541,16 * | 343,75 | No Normal     |
| GGT             | U/L    | 6,38 - 47,74 *    | 27,06  | No Normal     |
| FA              | U/L    | 200,83 - 589,80   | 395,32 | Normal        |
| <b>B. Total</b> | mg/dl  | 1,70 - 4,18       | 2,94   | Normal        |

IR: Intervalo de Referencia

Distribución evaluada luego de eliminación de *outliers* mediante la prueba de Shapiro-Wilk.

\* Valores recalculados mediante el metodo de las medias