



Archivos de Medicina Veterinaria

ISSN: 0301-732X

archmv@uach.cl

Universidad Austral de Chile

Chile

JUÁREZ ESTRADA, M. A.; PETRONE GARCÍA, V. M.; VELAZCO, X. H.; TÉLLEZ, G.  
Evaluación de la técnica de lee-white y tres técnicas de hemostasis primaria en aves leghorn  
Archivos de Medicina Veterinaria, vol. 33, núm. 1, 2001, pp. 97-103  
Universidad Austral de Chile  
Valdivia, Chile

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=173013744011>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org





redalyc.org

Sistema de Información Científica  
Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal  
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto



## Archivos de medicina veterinaria

ISSN 0301-732X *versión impresa*

-  Como citar este artículo
-  Agregar a favoritos
-  Enviar a e-mail
-  Imprimir HTML

Arch. med. vet. v.33 n.1 Valdivia 2001

### Evaluación de la técnica de lee-white y tres técnicas de hemostasis primaria en aves leghorn

#### Evaluation of the lee-white modified technique and three blood clotting time techniques in leghorn chicks

M. A. JUÁREZ ESTRADA, M. V. Z., M. C.; V. M. PETRONE GARCÍA, M.V. Z. M. C.; X. H. VELAZCO, M. V. Z., M. C.; G. TÉLLEZ, M. V. Z., M. C. Ph. D.

Departamento de Producción Animal : Aves, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Avenida Universidad 3000, circuito exterior, Ciudad Universitaria, México, D.F., CP 04510.

### SUMMARY

Intramuscular and subcutaneous hemorrhages in the meat of chicken is likely associate to some diseases of liver function and coagulation factors. Laboratory diagnostic tests of these pathological situations are required. The primary coagulation mechanisms were determined throughout stop bleeding time in comb, wattles and nail cut. In order to get *in vitro* coagulation time the modified technique Lee-White was used. The mean value obtained was  $5.03 \pm 0.710$  minutes. Measurement of bleeding stop by comb and wattle cut gave a mean values of  $4.47 \pm 0.422$  and  $2.5 \pm 0.151$  minutes, respectively and they were different ( $p < 0.01$ ) than the nail cut ( $10.45 \pm 0.94$ ); therefore, the last technique is not adequate as diagnostic test because it is very traumatic and variable. There were not differences in coagulation times among birds of different age. Coagulation time obtained in Lee White's modified test were similar to those reported by other authors, with differences when the age

could be use the stop bleeding time with the comb and wattles cut techniques.

**Palabras claves:** Leghorn, Lee-White, coagulación, hemostasis.

**Key words:** Leghorn, Lee-White, blood coagulation, blood clotting.

## INTRODUCCIÓN

Diferentes entidades patológicas llegan afectar el proceso de coagulación en las aves, los cuales repercuten directamente en los parámetros productivos ([Galvin, 1978](#); [Winford y Mora, 1979](#)). Se ha reportado que los mecanismos de coagulación en las aves son ligeramente diferentes

a los observados en mamíferos, esto posiblemente debido a las diferencias fisiológicas que existen entre ambos. Actualmente se piensa que el mecanismo de coagulación extrínseco en las aves es más importante que el mecanismo de coagulación intrínseco ([Zincl, 1986](#)).

Un aspecto importante al momento de comercializar la carne de pollo es su buena presentación al consumidor; sin embargo, esta frecuentemente se ve deteriorada debido a la presencia de hemorragias intramusculares y subcutáneas en las distintas piezas cárnicas del ave ([Forgacs y col., 1958](#); [Doerr y col., 1976](#); [Doerr y Hamilton, 1981](#); [Mishra y col., 1996](#)).

Para efectuar el diagnóstico de los agentes etiológicos que producen estas hemorragias, se necesita contar en el laboratorio de patología aviar, con técnicas efectivas que auxilien en la determinación de los tiempos normales de coagulación y hemostasis primaria de las aves ([Griminger, 1986](#); [Mishra y col., 1996](#)). Se ha observado que estos valores se encuentran descritos de manera variable ([Bigland, 1964](#); [Bigland y Starr, 1965](#); [Doerr y col., 1976](#); [Swenson, 1977](#); [Fradson y Spurgeon, 1995](#)), con la finalidad de evaluar en qué momento se hallan alterados se requiere contar con parámetros normales.

## MATERIAL Y MÉTODOS

*Modificación de la técnica de Lee White.* En el presente estudio se evaluó una modificación al método de Lee-White para medir tiempo de coagulación *in vitro*, la cual consistió en modificar la temperatura de la prueba, originalmente esta prueba evalúa la coagulación en humanos y mamíferos domésticos (es realizada a 37 °C), la modificación en el presente estudio consistió en efectuarla a la temperatura de las aves domésticas (*Gallus gallus*, 41°C temperatura media de las aves) ([Griminger, 1986](#); [Fradson y Spurgeon, 1995](#)). Además, se evaluaron tres métodos propuestos para medir tiempo de detención de sangrado en sistema vascular periférico (hemostasis primaria).

*Diseño experimental y metodología.* Se criaron tres grupos de 10 aves Leghorn machos cada uno, el primero hasta las siete, el segundo hasta las ocho y el tercero hasta las nueve semanas de edad respectivamente. Para medir el tiempo de coagulación *in vitro*, se obtuvieron de cada una de las 10 aves de cada grupo, tres ml de sangre de la vena radial del ala derecha, con una jeringa de 5 ml no siliconizada (Plastipak ", Becton Dickinson). Se depositó un solo mililitro respectivamente en cada uno de tres tubos de ensayo de 10 x 75 mm (no siliconizados), identificados progresivamente del uno al tres, previamente atemperados a 41°C en baño María. Inmediatamente después de colocar la sangre se colocaron nuevamente en baño María a 41°C ([Bigland y Starr<sup>1</sup>, 1965](#); [Zinkl<sup>3</sup>, 1986](#); [Swenson<sup>2</sup>, 1977](#)). Posteriormente, cada 30 segundos se evaluó el tiempo de coagulación en el tubo uno, en el cual se depositó el primero de los tres ml de sangre obtenidos. Cuando se percibió una franca coagulación de la sangre, se siguió monitoreando el tubo dos, al coagular la sangre del tubo dos se continuó evaluando cada 30 segundos el tubo tres, cuando la sangre del tubo tres coaguló completamente, se registró el tiempo total de coagulación en minutos. El primer grupo se evaluó cuando cumplió siete semanas de edad, el segundo a las ocho semanas de edad y el tercer grupo a las nueve semanas de edad.

Para determinar el tiempo de detención de sangrado en la hemostasis primaria, ocho horas después de evaluar cada grupo con la técnica de Lee-white modificada, a todas las aves de cada grupo se le cortaron dos terceras partes de la uña del tercer dedo (lateral) de la pata derecha, se empezó a cronometrar el tiempo desde el momento en que salió la sangre, retirándose las gotas de sangre cada 30 segundos con papel filtro estéril, el tiempo de coagulación total se tomó hasta el momento en que cesó el sangrado. Para efectuar la lectura a nivel de barbilla derecha en las mismas aves se cortó una

la cresta se efectuó cortando una tercera parte de la misma en las mismas aves de cada grupo, la detención de sangrado se monitoreó cada 30 segundos hasta la formación del coagulo, registrando el tiempo de detención de sangrado.

**Análisis estadístico.** Se determinó una media puntual para las lecturas en minutos del ensayo de coagulación *in vitro* y de los tres métodos de detención de sangrado. Se incluyó un intervalo de confianza al 95%. Se realizó un análisis de varianza a partir de los datos transformados en recíprocos inversos de las lecturas efectuadas en minutos de coagulación y detención de sangrado de cada ave, entre los grupos de edades diferentes. La comparación múltiple de las medias entre y dentro de los grupos se realizó por medio del paquete estadístico computacional SAS, a través de la prueba de Tukey, con un nivel de significancia estadística para alfa de  $p < 0,05$  ([Luginbuke y Schlotzhaver, 1987](#)).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados comparativos de los tiempos de coagulación *in vitro*, o de los tres métodos de detención de sangrado (hemostasis primaria), entre las aves de siete, ocho y nueve semanas de edad, no muestran diferencia estadística dentro de cada una de las técnicas ([cuadro 1](#)).

Cuadro 1. Comparación entre aves de distinta edad de tres métodos de evaluación de hemostasis primaria y en *in vitro* la técnica de Lee-White modificada.  
Comparison between birds of different age of three methods used in order to evaluated primary coagulation and *in vitro* coagulation modified Lee-White test.

Comparación de medias con base a recíprocos inversos				
Edad de las aves	Hemostasis			Lee-White vía intrínseca
	Corte de uña	Corte de cresta	Corte de barbilla	
	(minutos) <sup>A</sup>			
7 semanas	8.98 ± 4.09 <sup>a</sup>	4.30 ± 2.49 <sup>a</sup>	2.53 ± 0.89 <sup>a</sup>	4.88 ± 4.04 <sup>a</sup>
8 semanas	12.57 ± 7.25 <sup>a</sup>	3.74 ± 1.20 <sup>a</sup>	1.51 ± 0.53 <sup>a</sup>	4.58 ± 3.09 <sup>a</sup>
9 semanas	9.59 ± 3.32 <sup>a</sup>	5.35 ± 2.94 <sup>a</sup>	2.37 ± 0.73 <sup>a</sup>	5.92 ± 4.60 <sup>a</sup>

<sup>A</sup> Minutos ± desviación estándar dentro de una misma columna seguidos por diferente literal son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ) ( $n = 10$ ).

Los intervalos de confianza del estimador puntual de cada uno de los tres métodos de detención de sangrado y de la técnica de coagulación *in vitro* de Lee White modificada se muestran en el [cuadro 2](#). Al comparar entre sí las medias de los tres métodos de detención de sangrado y el método de coagulación *in vitro* de Lee-White modificado, se observó que la técnica de detención de sangrado, que consistió en cortar la uña, fue estadísticamente diferente ( $p < 0,05$ ), a las otras dos técnicas y a la técnica de coagulación *in vitro*, difiriendo esta última, a su vez, con la técnica del corte de barbilla ( $P < 0,05$ ) ([cuadro 3](#)).

Cuadro 2. Determinación de las medias e intervalos de confianza de los tres métodos de detención de sangrado y el método de coagulación *in vitro* de Lee-White modificado.  
Time means and confidence intervals determination in three methods of bleeding detection and the Lee-White modified method.

Corte de uña	Media en minutos $\pm$ Error estándar		Lee White modificado
	Corte de barbilla	Corte de cresta	
10.45 $\pm$ 0.947 (8.59 : 12.31)	2.51 $\pm$ 0.151 (2.21 : 2.80) <sup>A</sup>	4.47 $\pm$ 0.422 (3.64 : 5.30)	5.03 $\pm$ 0.710 (3.64 : 6.42)

<sup>A</sup> Intervalos determinados a un 95 % de confianza con base al máximo error de estimación, considerando una distribución normalizada de las lecturas individuales reportadas en minutos que fueron transformados a través de sus recíprocos inversos.

Cuadro 3. Comparación entre las medias de los tres métodos de detención de sangrado y el método de coagulación in vitro de Lee-White modificado.  
Comparison between time means of three methods of bleeding detection and the Lee-White modified method.

Tipo de Técnica empleada Comparación	Media en minutos $\pm$ máx. error de est. (lecturas realizadas en minutos) <sup>A</sup>
corte de uña del tercer dedo	10.45 $\pm$ 1.89 <sup>a</sup>
corte de la barbilla derecha	2.51 $\pm$ 0.30 <sup>c</sup>
corte del segundo pico de la cresta	4.47 $\pm$ 0.84 <sup>bc</sup>
Lee-White modificada	5.03 $\pm$ 1.39 <sup>b</sup>

<sup>A</sup> Valores dentro de la columna seguidos por diferente literal son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ) ( $n = 30$ ).

Los intervalos de las lecturas en minutos por ave de los tiempos de coagulación y detención de sangrado fueron más estrechos que los reportados por otros autores, a excepción del reportado por [Moregaonkar y col., \(1991\)](#) (cuadro 4). La ausencia de diferencia entre las aves de diferente edad, fue debida a la adecuada estandarización de las técnicas, probablemente también debido a lo corto del período de evaluación entre grupos; a diferencia de [Bigland](#), quien, en 1964, con rangos más amplios de edad en las aves que evaluó, determinó que los tiempos de coagulación *in vitro* difieren entre aves de 4, 10, y 12 meses de edad, y entre machos y hembras de la misma edad. [Lavelle y colaboradores \(1994\)](#) hallaron, a su vez, diferencias entre aves reproductoras y su progenie.

Cuadro 4. Comparativo del tiempo obtenido con la técnica Lee-White de coagulación in vitro en relación a los

tiempos reportados por otros autores.

Comparison of time means obtained was gotten with the in vitro Lee-White modified method in relation to chohsereported byr other authors.

<b>Citas bibliográficas (comparativo)</b>	<b>Intervalos (lecturas realizadas en minutos)</b>
<b>Doerr y col., 1976 <sup>A</sup></b>	<b>3:00 a 4:00</b>
<b>Galvin . 1978 <sup>B</sup></b>	<b>3:00 a 5:00</b>
<b>Fradson y col., 1995 <sup>B</sup></b>	<b>4.00 a 6.00</b>
<b>Presente estudio (Lee-White modificada)</b>	<b>3.60 a 6.40</b>
<b>Griminger. 1986 <sup>B</sup></b>	<b>2:00 a 10:00</b>
<b>Moregaonkar, 1991 <sup>B</sup></b>	<b>4.08 a 4.40</b>
<b>Swenson . 1977 <sup>B</sup></b>	<b>3:50 a 14.30</b>
<b>Bigland. 1964 <sup>B</sup></b>	<b>29:00 a 69:00</b>
<b>Bigland y Starr, 1965 <sup>B</sup></b>	<b>25:00 a 150:00</b>

<sup>A</sup> Técnica de Tocantins modificada.

<sup>B</sup> Los tiempos de coagulación se obtuvieron a través de la técnica de Lee-White estándar.

Se observó un comportamiento más uniforme en los tiempos de detención de sangrado en las técnicas del corte de barbilla y del segundo pico de la cresta, en comparación con el tiempo registrado en el corte de la uña, el cual presentó un mayor error estándar, implicando un mayor rango de las lecturas y por lo tanto menos adecuado.

El método más adecuado en el presente estudio fue la medición del tiempo de coagulación intrínseca (técnica de Lee-White modificada), debido posiblemente a la estandarización obtenida, la cual determinó menor variabilidad en los resultados. Está técnica es útil para detectar alteraciones de la coagulación. Sin embargo, aunque su aplicabilidad es adecuada, tiene algunas restricciones, como son el equipo para efectuarla y la precaución al momento de recolectar las muestras sanguíneas, debido a que son fáciles de contaminar con tromboplastina de origen tisular, lo cual puede alterar el tiempo de coagulación, de acuerdo a lo observado por [Bigland y Starr \(1965\)](#), [Doerr y col. \(1976\)](#) y [Zinkl \(1986\)](#).

Los tiempos de coagulación obtenidos en el presente trabajo con la técnica de Lee-White modificada, son similares a los reportados por diferentes autores, con pequeñas variaciones atribuidas posiblemente a la edad y estirpe de las aves estudiadas ([cuadro 4](#)). La diferencia observada respecto a los valores obtenidos por [Swenson \(1977\)](#) y [Griminger \(1986\)](#) quizá se debe a que estos autores consideran una gran cantidad de fuentes heterogéneas de información, además de presentar sus resultados en forma de rangos de lectura máxima y mínima, sin considerar el error estándar. La marcada diferencia entre [Bigland y Starr \(1965\)](#), y las lecturas de los demás autores además de la reportada en el presente estudio ([cuadro 4](#)), se debe posiblemente a particularidades de la técnica empleada por cada investigador, que puede o no considerar, la forma de obtener las muestras sin lesionar el vaso sanguíneo y consecuentemente contaminar con tromboplastina tisular las muestras, o bien, a que las aves fueron alimentadas involuntariamente con algún contaminante en el alimento, como micotoxinas, las cuales pueden alterar el proceso de coagulación ([Forgacs y col., 1958](#); [Doerr y Hamilton 1981](#); [Moregaonkar y col., 1991](#); [Mishra y col., 1996](#)).

Sin embargo, si existiera alguna alteración de la vía intrínseca o extrínseca que provocará la disminución o ausencia de cualquiera de sus componentes, no importa que exista gran cantidad de tromboplastina tisular en la muestra, los tiempos de coagulación invariablemente se encontrarán retardados de acuerdo a lo indicado por [Forgacs y col. \(1958\)](#); [Galvin \(1978\)](#) y [Winford y Mora \(1979\)](#). Además, un tamaño reducido de las aves evaluadas puede ocasionar alta dispersión de las lecturas e influir negativamente sobre la interpretación de los resultados de coagulación.

La modificación respecto a la temperatura en la técnica de Lee-White fue adecuada, ya que [Bigland y Starr en 1965](#) observaron que a menor temperatura los tiempos de coagulación aumentan, lo que ocasiona alteraciones en las lecturas. En el presente trabajo se le dio énfasis a este aspecto



Para descartar una probable contaminación con tromboplastina tisular primero se evaluó la coagulación del primero de los tres mililitros obtenidos, posteriormente el segundo; y la lectura total se tomó a partir del tercer tubo, en el cual se depositó el último mililitro obtenido, presumiblemente menos contaminado con tromboplastina tisular al momento de efectuar la punción venosa, según lo reportado por [Bigland y Starr \(1965\)](#), [Swenson \(1977\)](#) y [Zinkl \(1986\)](#).

No existió diferencia entre la técnica de coagulación *in vitro* de Lee-White modificada y la técnica de detención de sangrado de corte de cresta, al igual que entre ésta última y la del corte de barbilla, variando entre sí únicamente en lo referente al sitio donde se llevó a cabo la lectura. Por otra parte, estas dos últimas técnicas, aunque menor que la del corte de uña, fueron traumáticas para el ave. Sin embargo, no se debe descartar su uso cuando se requiera evaluar la vía extrínseca de la coagulación, o bien, cuando no se pueda efectuar la técnica de Lee-White modificada descrita en el presente estudio.

La técnica del corte de uña fue estadísticamente diferente al resto; además, resultó ser altamente traumática, por lo que no se recomienda su utilización.

Las técnicas que evalúan hemostasis primaria presentan demasiadas variables, por lo cual son menos adecuadas para detectar problemas de la coagulación. Sin embargo, si determinado proceso patológico es tan grave como para afectar los componentes de la vía extrínseca, entonces es importante la utilización de las mismas, sobre todo si no hay acceso a pruebas de laboratorio como la medición de los tiempos parciales de protrombina y tromboplastina aviar ([Griminger, 1986](#)). Existe controversia si la vía extrínseca es más importante que la vía intrínseca en la coagulación sanguínea de las aves ([Forgacs y col., 1958](#); [Doerr y col., 1975, 1976, 1981, Griminger, 1986](#)); sin embargo, mientras se investiga más al respecto, se debe considerar que cualquier agente etiológico que altere los componentes comunes a las dos, ocasionará hemorragias intramusculares y subcutáneas, provocando problemas de salud en las parvadas y en la comercialización de las mismas.

La técnica de Lee-White modificada, la del corte de cresta y la de corte de barbilla descritas en la presente investigación permiten detectar adecuadamente alteraciones en el proceso fisiológico de la coagulación.

## RESUMEN

La presencia de hemorragias intramusculares y subcutáneas en las piezas cárnicas del ave afectan la presentación del pollo al consumidor y causan pérdidas económicas para los productores. En el laboratorio se requiere contar con pruebas de diagnóstico estandarizadas para la detección de problemas de la coagulación sanguínea. En el presente estudio se midió el tiempo de detención de sangrado para la valoración del mecanismo de hemostasis primaria mediante el corte de cresta, barbilla y uña. Para obtener el tiempo de coagulación de la vía intrínseca se utilizó el método de Lee White, el cual fue modificado en la temperatura de lectura a 41°C, en el cual se obtuvo una media de  $5,03 \pm 0,710$  min. El promedio de los tiempos de detención de sangrado obtenidos mediante el corte de cresta y barbilla, fueron de  $4,47 \pm 0,422$  min y  $2,51 \pm 0,151$  min respectivamente. Se halló una diferencia altamente significativa ( $P < 0,01$ ) respecto al corte de uña ( $10,45 \pm 0,947$  min), por lo que este método no es recomendable como prueba de diagnóstico, ya que es demasiado traumático y variable. No hubo diferencia entre los tiempos de coagulación de aves de distinta edad. Los tiempos de coagulación obtenidos con la técnica de Lee White modificada fueron similares a los obtenidos por otros autores, con diferencias atribuibles a la edad y a la finalidad zootécnica de las aves estudiadas. La técnica modificada de Lee-White es una prueba de laboratorio confiable que sirve para detectar adecuadamente la presencia de trastornos de la coagulación. Cuando no sea posible efectuarla, se puede emplear como alternativa el tiempo de detención de sangrado mediante las técnicas de corte de cresta o barbilla.

## BIBLIOGRAFÍA

BIGLAND, C.H. 1964. Blood clotting time of five avian species. *Poult. Sci.* 43:1035-1039.

BIGLAND, C. H., R. M STARR. 1965. Comparison of simple blood coagulation tests in birds. *Can. Vet. J.* 6: 233-236.

- DOERR, J.A., R.D. WYATT, P.B. HAMILTON. 1976. Impairment of coagulation function during aflatoxicosis in young chickens. *Tox. and Appl. Pharma.* 35: 437-446.
- DOERR, J.A., P.B. HAMILTON. 1981. Aflatoxicosis and intrinsic coagulation function in broiler chickens. *Poult. Sci.* 60: 1406-1411.
- FORGACS, J., H. KOCH, T.W. CARLL, R.H. WHITE-STEVENSON. 1958. Additional studies on the relationship of mycotoxicosis to the poultry hemorrhagic syndrome. *Am. J. Vet. Res.* 7: 744-753.
- FRADSON R.D., T.L. SPURGEON. 1995. Anatomía y Fisiología de los Animales Domésticos. Quinta edición. ed. Interamericana, Mc GRAW-HILL. México, D.F.
- GALVIN, C.E. 1978. Approach to the anemic avian patient. *Calif. Vet.* 2: 12-18.
- GRIMINGER, P. 1986. Blood Coagulation. En *Avian Physiology*. 4<sup>th</sup> ed. Edited by Sturkie, P.D. pp 121-126 ed. Springer-Verlag New York, Inc. NY U.S.A.
- LAVELLE, P.A., Q.P. LLOYD, C.V. GAY, R.M. JR. LEACH. 1994. Vitamin K deficiency does not functionally impair skeletal metabolism of laying hens and their progeny. *J. Nutr.* 124: 371-377.
- LUGINBUKE, R.C., S.D. SCHLOTZHAVER. 1987. SAS/STAT guide for personal computers. 6th. ed. SAS Institute. Cary, N.C. Pp 555 - 573.
- MOREGAONKAR S.D., V.P. VADLAMUDI, B.B. DESHPANDE. 1991. Prolongation of clotting time in subacute butyric acid toxicity in chicken. *Indian Vet. J.* 68: 1086
- MISHRA U.K., P.K. DWARAKANATH, S.P. AGRAWAL, M.I. HOSSAIN. 1996. Effect of T-2 toxin on haemostatic profile in growing chickens. *Indian Vet. J.* 73: 1133-1137.
- SWENSON, M. 1977. Dukes` Physiology of Domestic Animals. 9<sup>th</sup> ed. Comstock Publishing Associates a division of Cornell University Press. Ithaca, NY, U.S.A.
- WINFORD, T. R., E. C. MORA. 1979. Hemorrhagic syndrome of chicks produced by *Penicillium citrinum* AUA-532 contaminated corn. *Poult. Sci.* 58: 810-814.
- ZINKL, J.G. 1986. Avian Hematology. En *Schalm`s Veterinary Hematology*. 4<sup>th</sup> ed. Edited by Jain, N.C. Lea & Febiger. Philadelphia. U.S.A. P.pp 256-263.

Aceptado : 24.04.2001