

Zorzo C, Barros MA, Souza TG, Borges JC, Pereira NA, Silva DW, Bortolini J & Mendonça AJ (2020). Reference values for domestic felines (*Felis catus*) of prothrombin time and activated partial thromboplastin time. *Research, Society and Development*, 9(7): 1-9, e744974819.

**Valores de referência de tempo de protrombina e tempo de tromboplastina parcial
ativada para felinos domésticos (*Felis catus*) com kit reagente humano**

**Reference values for domestic felines (*Felis catus*) of prothrombin time and activated
partial thromboplastin time**

**Valores de referencia para gatos domésticos (*Felis catus*) de tiempo de protrombina y
tiempo de tromboplastina parcial activada**

Recebido: 22/05/2020 | Revisado: 23/05/2020 | Aceito: 27/05/2020 | Publicado: 09/06/2020

Carolina Zorzo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7635-1374>

Universidade Federal do Mato Grosso, Brasil

E-mail: carolzorzo6@gmail.com

Marisol Alves de Barros

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6720-0053>

Universidade Federal do Mato Grosso, Brasil

E-mail: soolbarros@gmail.com

Thays Guimarães de Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7920-7474>

Universidade Federal do Mato Grosso, Brasil

E-mail: thays.veterinaria@outlook.com.br

Jaqueline Camargo Borges

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3533-7618>

Universidade Federal do Mato Grosso, Brasil

E-mail: jaquelineborges13@hotmail.com

Nathalia Assis Pereira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4045-9073>

Universidade Federal do Mato Grosso, Brasil

E-mail: nathy_assis_15@hotmail.com

Diogo Wittingham da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3937-2859>

Universidade Federal do Mato Grosso, Brasil

E-mail: dws-diogo@hotmail.com

Juliano Bortolini

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0126-3040>

Universidade Federal do Mato Grosso, Brasil

E-mail: julianobortolini@gmail.com

Adriane Jorge Mendonça

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9367-5028>

Universidade Federal do Mato Grosso, Brasil

E-mail: adrianejorge.m@gmail.com

Resumo

Os exames de avaliação da coagulação sanguínea são utilizados para verificar a hemostasia em todas as suas fases e investigar a presença de doenças hemostáticas em pequenos animais. Diante da escassez e do alto valor aquisitivo de reagentes específicos para a avaliação da hemostasia em felinos, os reagentes humanos são utilizados em grande parte dos laboratórios clínicos veterinários, o que compromete a sensibilidade dos resultados. O presente trabalho teve como objetivo determinar valores de referência para o tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) para felinos domésticos (*Felis catus*), utilizando reagentes da marca Wiener Lab, padronizados para humanos. Amostras de sangue de 50 felinos adultos clinicamente sadios foram utilizadas. Os resultados obtidos foram de $3,9 \pm 1,52$ segundos para o TP, com valores mínimo e máximo de 3,52 e 4,34; e de $27,94 \pm 1,77$ segundos para TTPa, com valores mínimo e máximo de 27,50 e 28,48, respectivamente. Concluiu-se, que os valores obtidos neste experimento podem ser utilizados como referência para felinos, em testes manuais com kit humano da marca Wiener Lab.

Palavras-chave: Gatos; Coagulação; Laboratório clínico; Hemostasia.

Abstract

Blood coagulation tests are used to check hemostasis in all its phases and to investigate the presence of hemostatic diseases in small animals. In view of the scarcity and the high acquisition value of specific reagents for the evaluation of hemostasis in felines, human

reagents are used in most veterinary clinical laboratories, which compromises the sensitivity of the results. The present study had as objective to determine reference values for prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT) for domestic felines (*Felis catus*) using standardized Wiener reagents for humans. Blood samples from 50 clinically healthy adult cats were used. The results obtained were 3.9 ± 1.52 seconds for the PT, with minimum and maximum values of 3.52 and 4.34; and 27.94 ± 1.77 seconds for aPTT, with minimum and maximum values of 27.50 and 28.48, respectively. It is concluded that the values obtained in this experiment can be used as a reference for felines, in manual tests with a human kit from the Wiener Lab brand.

Keywords: Cats; Coagulation; Clinical laboratory; Hemostasis.

Resumen

Las pruebas de coagulación de la sangre se utilizan para verificar la hemostasia en todas sus fases y para investigar la presencia de enfermedades hemostáticas en animales pequeños. En vista de la escasez y el alto valor de adquisición de reactivos específicos para la evaluación de la hemostasia en felinos, los reactivos humanos se utilizan en la mayoría de los laboratorios clínicos veterinarios, lo que compromete la sensibilidad de los resultados. El presente estudio tuvo como objetivo determinar los valores de referencia para el tiempo de protrombina (PT) y el tiempo de tromboplastina parcial activada (aPTT) para gatos domésticos (*Felis catus*) utilizando reactivos Wiener estandarizados para humanos. Se utilizaron muestras de sangre de 50 gatos adultos clínicamente sanos. Los resultados obtenidos fueron $3,9 \pm 1,52$ segundos para el PT, con valores mínimos y máximos de 3,52 y 4,34; y $27,94 \pm 1,77$ segundos para aPTT, con valores mínimos y máximos de 27,50 y 28,48, respectivamente. En conclusión, los valores obtenidos en este experimento pueden usarse como referencia para felinos, en pruebas manuales con un kit humano de la marca Wiener Lab.

Palabras clave: Gatos; Coagulación; Laboratorio clínico; Hemostasia.

1. Introdução

A hemostasia é o conjunto de mecanismos que conduzem uma resposta a uma injúria ou desordem vascular; este mecanismo é composto por três processos: hemostasia primária, hemostasia secundária e fibrinólise, estes devem ser regulados para, simultaneamente, contrapor-se à perda excessiva de sangue e evitar a formação de trombos intravasculares decorrentes de formação excessiva de fibrina. O equilíbrio funcional é garantido por

interações entre proteínas, respostas celulares complexas e regulação de fluxo sanguíneo (Bittencourt & Santos, 2016).

O modelo de coagulação proposto por Vine (2009), preconiza que substâncias pró-coagulantes ativadas permaneçam localizadas no sítio da lesão para a formação do trombo no local, o processo de hemostasia para este modelo possui quatro fases sobrepostas: iniciação, amplificação, propagação e finalização (Ferreira *et al.*, 2010).

Doenças hemorrágicas são cada vez mais comuns no dia a dia dos hospitais e clínicas veterinárias, e caracterizam-se por hemorragias de gravidade variável em diferentes áreas do corpo. Podem ser de causa hereditária ou adquirida, relacionadas a doenças hematológicas ou não, podendo ser originadas de variadas condições sistêmicas (Rezende, 2010), geralmente são evidenciadas por sinais clínicos, como equimoses, hematomas, petéquias e sangramentos. (Lopes *et al.*, 2005).

Na rotina do laboratório clínico, *testes de coagulação* são frequentemente solicitados na prática médica, avaliam a hemostasia em situações pré-cirúrgicas, além de investigar doenças hemorrágicas e trombóticas, *estes testes não são padronizados e otimizados para as espécies animais, o que compromete a sensibilidade em detectar problemas na coagulação* (Stockham & Scott, 2011).

Para a avaliação da coagulação sanguínea de rotina, de uso para diagnóstico e triagem clínica, é recomendada a realização do coagulograma completo, a fim de avaliar as propriedades da hemostasia primária e secundária. Este é composto por um conjunto de testes, tais como: contagem de plaquetas (CP), tempo de ativação da protombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) (Oliveira *et al.*, 2019). *Estes testes possuem maior potencial para analisar a desordens hemostáticas do que os testes da hematologia e bioquímica sérica de rotina* (Solback *et al.*, 2019).

Os valores de referência para TP e TTPa encontrados na literatura para o plasma de pequenos animais sadios, utilizando reagentes comerciais ideais para humanos, variam significativamente. O objetivo da presente pesquisa foi definir valores de referência de TP e TTPa para felinos domésticos utilizando kit comercial humano da marca Wiener Lab.

2. Material e Métodos

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Mato Grosso campus Cuiabá, sob o protocolo n.º 23108.953380/2018-11. Foram utilizadas amostras de sangue de 50 felinos adultos hígidos,

sem distinção de raça e gênero. As amostras sanguíneas foram colhidas por venopunção jugular, acondicionadas em tubos contendo citrato de sódio 3,2% (1,8 ml) (Vacuplast[®]). O plasma foi imediatamente separado por centrifugação a 5.000 rpm durante 5 minutos, e as determinações de TP e TTPa foram realizadas utilizando-se os kits comerciais Soluplastin[®] e APTTest ellágico[®] (Weiner Lab), respectivamente. Todas as amostras foram testadas em duplicata.

Todos os reagentes utilizados nos dois testes foram aquecidos antecipadamente a 37 °C em banho maria. Para determinação do TP foram pipetados 100 µl do plasma em tubo de ensaio, e em seguida, foram adicionados 200 µl da tromboplastina liofilizada de cérebro de coelho. O cronômetro foi acionado e por meio de inclinação suave do tubo a cada segundo foi registrado o tempo gasto para formação de coágulo (momento em que a mistura límpida e líquida, se tornava turva e espessa).

Para determinação do TTPa foram pipetados 100 µl do plasma em tubo de ensaio, em seguida, foram adicionados 100 µl da cefalina com ácido ellágico como ativador particulado (reagente A do kit) e a mistura foi incubada a 37 °C por 3 minutos. Por último, foram adicionados 100 µl da solução de cloreto de cálcio (reagente B do kit). Após 25 segundos da mistura imóvel no banho maria, o cronômetro foi acionado e por meio de inclinação suave do tubo a cada segundo segundo foi registrado o tempo gasto para formação de coágulo (momento em que a mistura límpida e líquida, se tornava turva e espessa).

Todos os testes foram realizados pelo mesmo técnico e de acordo com as recomendações do kit Wiener Lab. Os intervalos de referência presentes no kit Weiner Lab, são de 10 - 14 segundos para TP, e de 30 - 43 segundos para TTPa.

A análise estatística utilizou à média, desvio padrão da média e intervalo de confiança *bootstrap* de 95%.

3. Resultados e Discussão

Os valores de referência para TP e TTPa obtidos com o plasma de 50 felinos adultos saudáveis, foram descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Valores de TP e TTPa em felinos clinicamente saudáveis na cidade de Cuiabá-MT.

	Média ± Desvio padrão	Intervalo de confiança (95%)	Mínimo e máximo
TP (segundos)	3,9 ± 1,52	3,52 e 4,34	2 e 8
TTPa (segundos)	27,94 ± 1,77	27,50 e 28,48	26 e 35

TP= Tempo da protrombina; TTPa= Tempo da tromboplastina parcial ativada. Fonte: Autores.

Os valores obtidos neste experimento com felinos sadios utilizando o kit humano Weiner Lab, foram menores comparados aos que trazem a bula, de 3,52 - 4,34 segundos para o TP e 27,50 - 28,48 segundos para o TTPa.

Garcia-Navarro (2005) e Lopes *et al.*, (2005), encontraram valores para felinos de 7 - 11,5 segundos para o TP, e 11 - 15 segundos para o TTPa, semelhantes aos sugeridos por Thrall (2015), esta diferença nos valores de TTPa podem ter sido causadas pela utilização da metodologia sem o tempo de espera de 25 segundos em banho maria, após a adição da solução de cloreto de cálcio (reagente B), como recomenda a bula do kit Wiener Lab.

Já Benvenuto (2014), utilizando outro kit humano (CLOT[®]) e plasma de felinos sadios, observou valores de até 12 segundos para TP e até 20 segundos para TTPa. No trabalho de Gottlieb *et al.*, (2017), foram obtidos valores de 7 - 12,7 segundos para TP. No estudo, felinos com traumas recentes foram avaliados, e para a comparação foi utilizado intervalo de referência de felinos sadios no *Animal Medical Center* (NY, EUA), os valores de TTPa foram de 10 - 28 segundos, mais altos que os encontrados por Benvenuto. Alguns fatores que podem causar a diferença relacionam-se à técnica de coleta, o recipiente, a concentração de anticoagulante, condições de cada local, o método, o tempo de armazenamento e a temperatura (Lopes *et al.*, 2005).

Em uma pesquisa realizada por Solbak *et al.*, (2019) a coleta de sangue para realização dos testes TP e TTPa foi realizada com dois calibres diferentes de agulha (22 e 25 gauge), nas veias jugulares de felinos saudáveis, os quais não se observou diferença significativa entre os valores, haja vista que todos se mantiveram nos intervalos de 11 - 12,2 segundos para o TP e 11,9 - 14 segundos para o TTPa, resultados de TP mais prolongados que 3,52-4,34 segundos e reduzidos em relação aos valores de TTPa (27,50 - 28,48 segundos), encontrados no presente trabalho. Estas variações podem estar relacionadas à espécie, raça, gênero, idade, estado nutricional dos animais e também da metodologia utilizada (Lopes *et al.*, 2005).

Alguns fármacos anestésicos podem levar a alterações nos testes de coagulação por conta da sua metabolização hepática, como encontrado por Biermann *et al.*, (2012) que demonstraram uma diminuição nos valores de TP em gatos saudáveis após o uso do protocolo dexmedetomidina (5µg/kg) e cloridrato de cetamina (3mg/kg) pela via intramuscular. Além disso, os valores de TTPa se mostraram aumentados após o uso do protocolo cloridrato de cetamina (10 mg/kg) e diazepam (0,5 mg/kg) pela via intravenosa (Reynolds *et al.*, 2012).

Já Volpato (2013), com o protocolo de dexmedetomidina, butorfanol e cloridrato de cetamina por via intramuscular, observou redução nos valores de TP e TTPa, sendo que a formação do coágulo, ocorreu mais rapidamente nos testes realizados após o uso do protocolo anestésico em questão.

4. Considerações Finais

Os valores de tempo de protrombina obtidos no presente trabalho foram menores do que os encontrados na literatura, e os valores de tempo de tromboplastina parcial ativada, maiores. As diferenças podem estar relacionadas aos diferentes métodos de colheita e realização (manual ou automatizada), concentração do coagulante, idade, gênero e estado nutricional dos animais, além da região em que o estudo ocorreu, qualidade e armazenamento da amostra e principalmente a metodologia do kit humano utilizado.

Os distúrbios hemostáticos de felinos devem ser investigados para que o diagnóstico e tratamento mais adequado seja realizada.

Enfatiza-se a importância dos testes de coagulação na fase pré-operatória, evitando futuras complicações hemorrágicas.

Referências

Benvenuto SL, Sanches OC (2014). *O seu laboratório clínico: metodologia aplicada em diagnóstico laboratorial veterinário* (3.ed). Presidente Prudente-SP: Impress.

Biermann K, Hungerbühler S, Mischke R, Kästner SB (2012). Sedative, cardiovascular, haematologic and biochemical effects of four different drug combinations administered intramuscularly in cats. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 39(2):137–50.

Bittencourt NC, Santos PNP (2016). Avaliação das provas da hemostasia primária em indivíduos atendidos nas clínicas odontológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, 48(2):144-8.

Ferreira CN, Sousa MO, Dusse LMS, Carvalho MG (2010). O novo modelo da cascata de coagulação baseado nas superfícies celulares e suas implicações. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 32(5):416-21.

Garcia-Navarro CEK (2005). *Manual de hematologia Veterinária* (2.ed). SP: Varela Ltda.

Gottlieb DL, Prittie J, Buriko Y, Lamb KE (2017). Evaluation of acute traumatic coagulopathy in dogs and cats following blunt force trauma. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 27(1):35-43.

Lopes STA, Emanuelli MP, Schmidt S, Raiser AG, Mazzanti A, Alves AS (2005). Valores de referência do tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) em cães. *Ciência Rural*, 35(2):381-4.

Oliveira BR, Cruz BR, Moss MF, Borato DCK (2019). Influência do tempo de centrifugação em testes de coagulação: tempo de protrombina e tempo de tromboplastina parcial. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, 51(1):52-7.

Reynolds, B. S.; Geffre, N. H.; Bourges-Abella, S.; Vaucoret, S.; Mourot, M.; Braun, J. D.; Trumel C (2012). Effects of intravenous, low-dose ketamine-diazepam sedation on the results of hematologic, plasma biochemical, and coagulation analyses in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 240(3):287-93.

Rezende S M (2010). Distúrbios da hemostasia: doenças hemorrágicas. *Revista Médica de Minas Gerais*. 20(4):534-53.

Solbak S, Epstein SE, Hopper K (2019). Influence of needle gauge used for venipuncture on measures of hemostasis in cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 21(2):143-7.

Stockham SL & Scott MA (2011). *Fundamentos de patologia clínica veterinária* (2.ed). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Thrall MA, Weiser G, Allison RW, Campbell TW. (2015). *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária* (2.ed). São Paulo: Roca.

Vine AK (2009). Recent Advances in Haemostasis and Thrombosis. *Retina*, 29(1):1-7.

Volpato J (2013). *Efeitos da contenção física e química sobre as variáveis hematólogicas e hemostáticas em gatos*. Dissertação de Mestrado, Universidade do Estado de Santa Catarina- UDESC, Lages, SC, Brasil. 59p.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Carolina Zorzo - 51%

Marisol Alves de Barros – 7%

Thays Guimarães de Souza – 7%

Jaqueline Camargo Borges – 7%

Nathalia Assis Pereira – 7%

Diogo Wittingham da Silva – 7%

Juliano Bortolini – 7%

Adriane Jorge Mendonça – 7%