

Libros de **Cátedra**

Atlas de hematología veterinaria

Técnicas e interpretación del hemograma en pequeños animales

María Sandra Arauz, Carla Floriana Scodellaro
y María Eugenia Pintos (coordinadoras)

n
naturales

FACULTAD DE
CIENCIAS VETERINARIAS


Eduulp
EDITORIAL DE LA UNLP



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA

ATLAS DE HEMATOLOGÍA VETERINARIA
TÉCNICAS E INTERPRETACIÓN DEL HEMOGRAMA
EN PEQUEÑOS ANIMALES

María Sandra Arauz
Carla Floriana Scodellaro
María Eugenia Pintos
(coordinadoras)

Facultad de Ciencias Veterinarias



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA


EDITORIAL DE LA UNLP

Índice

Capítulo 1	6
1. Formación de las células de la sangre	6
1.1. Eritropoyesis	6
1.2. Granulopoyesis	7
1.3. Linfopoyesis	10
1.4. Monopoyesis	11
1.5. Trombopoyesis	12
Capítulo 2	15
El hemograma en la clínica	15
1. Importancia del Hemograma en la Clínica. Aplicación y uso	15
2. Metodología automatizada	15
3. Materiales y equipamiento	19
4. Normas de bioseguridad	20
5. Toma de muestras	21
6. Anticoagulantes	23
Capítulo 3	25
Técnicas para realizar un hemograma	25
Introducción	25
Eritrocitos, hematíes o glóbulos rojos	25
1. Recuento de glóbulos rojos	26
2. Dosaje de la concentración de hemoglobina	28
3. Hematocrito	30
4. Índices hematimétricos	32
5. Leucocitos o glóbulos blancos: clasificación	34
6. Frotis sanguíneo	38
Fórmula leucocitaria relativa y absoluta	55

Capítulo 4	56
Técnicas hematológicas complementarias	56
1. Recuento absoluto de eosinófilos (RAE)	56
2. Eritrosedimentación	57
3. Recuento de reticulocitos	58
Capítulo 5	61
Hemostasia	61
1. Plaquetas sanguíneas	61
2. Perfil hemostático	62
Capítulo 6	70
Fisiopatología de la anemia	70
Diagnóstico y diferenciación de las causas de anemia	71
Clasificación de las anemias regenerativas	74
Anemias hemorrágicas	74
Anemias hemolíticas	76
Clasificación de anemias arregenerativas	80
Capítulo 7	84
Estudio de médula ósea	82
Toma de muestra de médula ósea	82
Materiales para la extracción	83
Citología normal de medula ósea	86
A. Alteraciones o cambios cuantitativos de la médula ósea	90
B. Alteraciones en la maduración	91
C. Alteraciones neoplásicas hematopoyéticas	91
Casos clínicos	95
Bibliografía	111

Prefacio

Este Atlas de Hematología Veterinaria. Técnicas e interpretación del hemograma en pequeños animales, fue pensado como material de estudio y guía para los alumnos de los últimos años de la carrera de Ciencias Veterinarias y para graduados que quieran incorporar el diagnóstico hematológico en sus prácticas profesionales. Es uno de los pocos en la literatura Veterinaria que interrelaciona técnicas, interpretación y fotos ilustrativas de colección propia para favorecer el reconocimiento de la morfología normal y patológica en un frotis sanguíneo. Está organizado en capítulos, comenzando con un recordatorio de la formación de las células sanguíneas, siguiendo por las maniobras de una adecuada extracción, acondicionamiento y envío de una muestra de sangre en pequeños animales. Luego una descripción de las técnicas hematológicas automatizadas y manuales para la realización de un hemograma, haciendo énfasis en estas últimas, con la interpretación de los parámetros de importancia clínica para aproximar el diagnóstico presuntivo en un paciente. Además describe técnicas hematológicas complementarias y su interpretación. Brinda un recordatorio de la fisiopatología de anemia y el diagnóstico de laboratorio e interpretación integrada a la historia clínica del paciente. También se incluye el estudio de la medula ósea: indicaciones, extracción e interpretación de las técnicas utilizadas. Se proporciona bibliografía de consulta para aquellos estudiantes que deseen profundizar sus conocimientos. Por último se describen diferentes casos clínicos con estudios hematológicos y su interpretación.

Se adjuntan los valores normales de acuerdo a la experiencia del equipo de trabajo del Servicio Central de Laboratorio que desde el año 1990 está en funcionamiento en el Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, que fue pionera a nivel nacional en incorporar a los Análisis Clínicos Veterinarios dentro de los Servicios Hospitalarios y como Curso de Análisis Clínicos Veterinarios obligatorio a partir de la modificación del plan de estudios en el año 2006.

Este Libro de Cátedra tiene como objetivo final, colaborar en un mejor desempeño profesional en la práctica de la Clínica Veterinaria, a través de la incorporación de estudios hematológicos realizados e interpretados correctamente para arribar a la aproximación diagnóstica de un paciente.

CAPÍTULO 1

Hematopoyesis

1. Formación de las células de la sangre

Las células sanguíneas tienen una vida media relativamente corta, por lo que deben ser producidas continuamente, para mantener su número en la sangre.

La formación de las células sanguíneas recibe el nombre de hematopoyesis. En el adulto la hematopoyesis se desarrolla en la médula ósea. La producción de eritrocitos (eritropoyesis), granulocitos (granulopoyesis), linfocitos (linfopoyesis), monocitos (monopoyesis) y trombocitos (trombopoyesis) realizan todo su proceso de crecimiento y diferenciación en la médula ósea. Los linfocitos (linfopoyesis), luego de su producción en la médula ósea, pueden multiplicarse y diferenciarse fuera de ella.

1.1. Eritropoyesis

En condiciones normales la serie eritroblástica representa entre el 30 y 35 % de los elementos nucleados de la médula ósea. La secuencia madurativa de esta serie se inicia con el pronormoblasto, el cual da origen al normoblasto basófilo, éste al normoblasto policromatófilo y al normoblasto ortocromatófilo.

Médula ósea

Los cambios morfológicos que se experimentan los eritrocitos en su maduración, se caracterizan por una notable disminución del tamaño nuclear de los mismos, con condensación progresiva de la cromatina y desaparición de los nucléolos. El citoplasma evoluciona perdiendo la intensa basofilia propia de los estadios más jóvenes y adquiere la acidofilia típica que le proporciona la hemoglobina en los estadios más maduros.

El pronormoblasto es la célula más inmadura de la serie roja capaz de ser identificada ópticamente como tal. Su tamaño es grande con un núcleo redondo central de gran talla que ocupa la mayor parte de la célula, por lo que la relación núcleo-citoplasma es elevada. La cromatina muestra una estructura finamente reticulada y posee uno o dos nucléolos mal limitados. El citoplasma es intensamente basófilo debido a su gran riqueza en polirribosomas y queda reducido a una delgada franja perinuclear en la que se aprecia una zona más clara, de forma semilunar, que corresponde al centrosoma de la célula. En ocasiones presenta unas proyecciones citoplasmáticas a modo de casquetes bastante característicos de este estadio madurativo.

El normoblasto basófilo es una célula de menor tamaño que posee un núcleo central con cromatina algo más madura. El citoplasma todavía tiene un color basófilo intenso. La relación núcleo-citoplasma disminuye progresivamente debido al rápido descenso del tamaño nuclear.

El normoblasto policromatófilo tiene un tamaño inferior y un núcleo redondo y central, cuya cromatina está fuertemente condensada. La relación núcleo-citoplasma alcanza el 25 %. El citoplasma, en el que se ha iniciado la síntesis hemoglobínica, va perdiendo basofilia y adquiere una tonalidad gris rosada, acidófila. Es la última célula normoblástica con capacidad mitótica.

El normoblasto ortocromatófilo tiene un tamaño pequeño con núcleo intensamente picnótico y cromatina muy condensada de aspecto homogéneo. El citoplasma muy acidófilo va aumentando su contenido hemoglobínico hasta adquirir la tonalidad propia del hematíe maduro. Este normoblasto puede sintetizar proteínas y hemoglobina. El núcleo, una vez finalizada su maduración, es expulsado de la célula por un mecanismo no del todo conocido, siendo éste posteriormente fagocitado por las células del sistema mononuclear fagocítico de la médula ósea.

Con la pérdida del núcleo el normoblasto ortocromatófilo se transforma en reticulocito, elemento anucleado que todavía posee cierta capacidad de síntesis de ARN, proteínas y hemoglobina, gracias a la persistencia de algunas mitocondrias, ribosomas y restos de reticuloendoplasmático. Su tamaño es algo superior al del eritrocito maduro (8-9 μm) y conserva un cierto grado de basofilia. Con la tinción vital de azul de metileno nuevo o azul brillante de cresil se observa en su interior una sustancia reticulada gránulo-filamentosa, que no es más que la precipitación del colorante sobre restos de ribosomas, ARN mensajero y otras organelas celulares. A medida que el reticulocito madura, va perdiendo el reticulado gránulo filamentoso hasta transformarse en eritrocito maduro, desprovisto del mismo. El reticulocito permanece algunos días en la médula ósea, pasando luego a sangre periférica, donde persiste 24 horas como tal y luego finaliza su maduración a glóbulo rojo. El tiempo que tarda en madurar el pronormoblasto a reticulocito es de 3-4 días. El recuento del número de reticulocitos en sangre periférica es un dato muy útil para establecer el índice de efectividad global de la eritropoyesis y determinar el origen central o periférico de una anemia, así como para establecer el carácter regenerativo o arregenerativo de los síndromes anémicos.

El eritrocito es el elemento más maduro de la eritropoyesis. Su misión fundamental es la captación de oxígeno y su transporte a los tejidos. Los eritrocitos son elementos anucleados, de color rosado y de forma redondeada u oval, con una depresión o zona más clara en el centro. La secuencia completa de este proceso de eritropoyesis puede observarse en la figura 1.

1.2. Granulopoyesis

La secuencia celular de los elementos granulocíticos morfológicamente identificables se inicia con el mieloblasto, el cual da origen al promielocito; éste al mielocito, metamielocito, granulocito en banda y finalmente granulocito segmentado. El mielocito es el último elemento con capacidad mitótica.

Las células de la granulopoyesis constituyen un 60-65 % de los componentes citológicos medulares. Los cambios morfológicos se resumen en la reducción de la relación núcleo-citoplasma, desaparición de los nucleolos, maduración de la cromatina nuclear, desaparición de la basofilia citoplasmática, aparición de la granulación primaria o azurófila a partir del promielocito y aparición de la granulación secundaria o específica (neutrófila, eosinófila, basófila) a partir del mielocito. Luego tiene lugar la indentación al llegar a los estadios de metamielocito y granulocito en banda, por último llega la segmentación.

La granulación primaria o azurófila es característica de esta estirpe celular. Por su elevado contenido en hidrolasas ácidas puede considerarse formada por lisosomas primarios. Estas hidrolasas son segregadas en el retículo endoplasmático, por lo que su demostración a nivel ultraestructural marcará los estadios iniciales de la diferenciación granulocítica. Los gránulos primarios contienen diversas enzimas, según se ha podido demostrar por técnicas citoquímicas y bioquímicas. La mieloperoxidasa se localiza exclusivamente en la granulación primaria y es el mejor marcador enzimático de este tipo de granulación. La lisozima, proteína catiónica rica en arginina cuya actividad en los gránulos primarios corresponde a una tercera parte del total de dicha actividad enzimática, se encuentra también en los granulocitos neutrófilos. La fosfatasa ácida se localiza igualmente en la granulación primaria, pero dependiendo de los sustratos empleados para su demostración se puede hallar en otras estructuras. En la granulación primaria pueden demostrarse otras hidrolasas como la beta-galactosidasa, beta-glucuronidasa, N-acetil-beta-glucosaminidasa, arilsulfatasa, esterasa y naftilamidasa. Los mucopolisacáridos sulfatados contribuyen al carácter azurófilo de la granulación primaria y determinan una fuerte metacromasia al ser teñidos con azul A. La presencia de estos mucopolisacáridos sulfatados contribuye a la reacción de ácido peryódico de Schiff (PAS) dando positiva para estos elementos. El color rojo púrpura de los gránulos azurófilos mediante las tinciones panópticas deja de observarse después del estado de mielocito, ya que con el proceso madurativo dichos gránulos pierden su metacromasia.

Médula ósea



Sangre

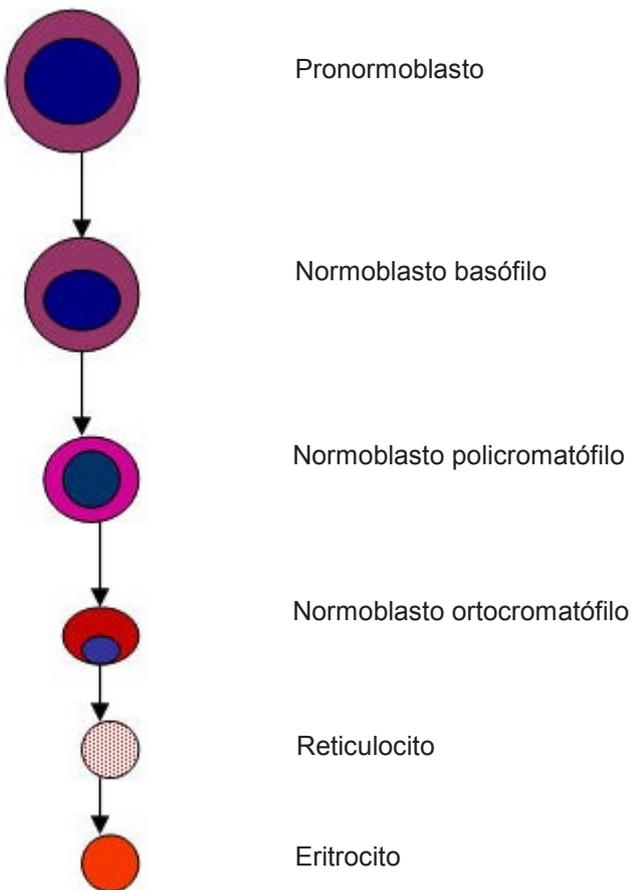


Figura 1. Eritropoyesis.

En estadios evolutivos posteriores, a partir del mielocito, aparece la granulación secundaria o específica. Son gránulos de menor tamaño (0,3 μm) y menos densos que los gránulos primarios. A partir del mielocito en la granulopoyesis neutrofílica coexisten los gránulos primarios y secundarios. Al sucederse las divisiones celulares, las células hijas van poseyendo un número menor de gránulos primarios, con lo que los secundarios adquieren un valor numérico superior, preponderante sobre los primarios. Los gránulos secundarios son mieloperoxidasa negativos y contienen lisozima en proporción superior a los primarios. El mejor marcador de la granulación secundaria de los neutrófilos es la lactoferrina. La granulación primaria representa una tercera parte del total, y las dos terceras partes restantes corresponderían a la granulación secundaria en el polimorfonuclear segmentado.

El mieloblasto es un elemento con ausencia de granulación al microscopio óptico. Se trata de una célula de forma redondeada u oval y de contorno liso. El núcleo, de gran tamaño en relación con el diámetro celular, es redondo y está provisto de una cromatina finamente reticulada, con presencia de dos o tres nucléolos bien visibles. El citoplasma, de color basófilo, es escaso y está desprovisto ópticamente de granulación y vacuolas.

El promielocito tiene un tamaño ligeramente superior al de su precursor y es la célula mayor de la granulopoyesis normal. Su forma es redondeada u oval. El núcleo, también de aspecto redondeado, se sitúa en posición algo excéntrica. La cromatina, algo más densa, presenta todavía algún nucléolo visible a nivel óptico. El citoplasma es amplio y basófilo, y contiene un número variable de gránulos primarios o azurófilos, que se disponen alrededor del núcleo dejando una zona más clara, agranular, que corresponde a la zona centrosómica. La granulación azurófila toma una coloración rojo-violácea con las tinciones panópticas habituales.

A medida que progresa la maduración del promielocito, éste se transforma en mielocito, célula redondeada de tamaño entre 12 y 18 μm . El núcleo, también redondeado, posee una cromatina condensada en cúmulos, de color violeta oscuro y sin nucléolo visible. El citoplasma, que ha perdido toda su basofilia, contiene un gran número de gránulos. A partir de este estado comienza la formación de la granulación secundaria específica (neutrófila, eosinófila, basófila) que, junto a la primaria, persiste en todos los elementos de la serie.

El metamielocito tiene un tamaño entre 10 y 15 μm y posee las mismas características morfológicas del mielocito, exceptuando la forma del núcleo, el cual adopta un aspecto reniforme al iniciar su indentación, con la parte convexa situada en la periferia celular y la cóncava dirigida hacia el centrosoma. El núcleo está dotado de una cromatina condensada en numerosos cúmulos cromáticos. Esta célula ha perdido la capacidad mitótica y al progresar en su maduración estrecha su núcleo hasta que éste se transforma en una delgada banda, dando origen a la célula en banda.

Las células en banda tienen un tamaño algo inferior al del metamielocito, con sus características morfológicas idénticas a las de su precursor. La mayor parte de estas células se localizan en la médula ósea, donde constituyen el compartimento de reserva granulocítica medular.

Los granulocitos segmentados se originan a partir de las células en banda por segmentación nuclear y son los elementos más maduros de la granulopoyesis. Circulan por la sangre periférica donde ejercen sus funciones de fagocitosis y bacteriolisis. Según el tipo de granulación específica se identifican los neutrófilos, eosinófilos y basófilos.

El tiempo de tránsito medular desde mieloblasto hasta la liberación de células maduras es de aproximadamente 6 a 9 días.

El origen clonal hematopoyético del mastocito o célula cebada queda actualmente demostrado, a través de diversos estudios, que es a partir de un progenitor pluripotente mieloide. Los precursores comprometidos abandonan la médula ósea, determinando el microambiente de los tejidos el desarrollo de propiedades diferenciales entre las células cebadas y los basófilos. La secuencia completa de este proceso de granulopoyesis puede observarse en la figura 2.

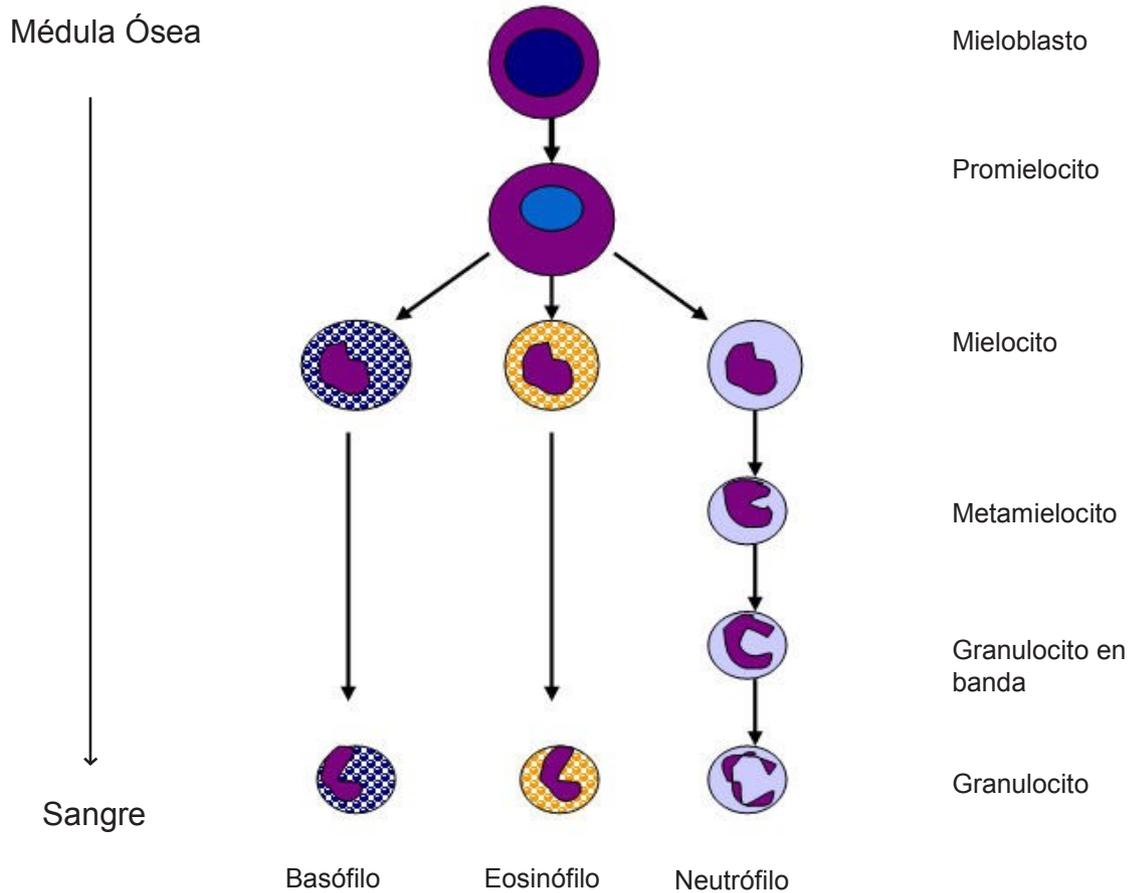


Figura 2. Granulopoyesis

1.3. Linfopoyesis

Los linfocitos se originan a partir de una célula pluripotencial localizada en la médula ósea, para luego diferenciarse según se trate de linfocitos T o de linfocitos B. En el caso de los linfocitos T, el estadio inicial en su formación, denominado protimocito, migra de la médula ósea hacia el timo, órgano donde realiza su diferenciación y maduración. Los linfocitos B, completan por lo general su maduración en la médula ósea, aunque también pueden realizarla en otros órganos linfoides (Placas de Peyer). Desde el punto de vista de su diferenciación morfológica, se puede observar que se mantienen los patrones generales de la diferenciación celular de todas las células hemáticas, caracterizados por la reducción de la relación nucleocitoplasmática, desaparición de los nucléolos, maduración de la cromatina nuclear, desaparición de la basofilia citoplasmática y la aparición de la granulación inespecífica.

1.4. Monopoyesis

Durante años el origen de la serie monocítica ha sido controvertido. Actualmente está bien establecido que los monocitos tienen origen en la médula ósea y que son células pertenecientes al sistema mononuclear fagocítico. La forma más joven de este sistema es el monoblasto, célula de identificación morfológica incierta. Le sigue en la escala de maduración el promonocito, reconocible con seguridad en la médula ósea; éste en su paso hemoperiférico, se transforma en monocito y finalmente se ubica en los tejidos en forma de histiocito y macrófago. De este modo, las células del sistema fagocítico mononuclear tienen diferente localización, aspecto morfológico y función, según cual sea el estadio madurativo en el que se encuentren.

Los monoblastos son difícilmente identificables en la médula ósea de los sujetos normales; no obstante, gracias a estudios citoquímicos y al aspecto morfológico óptico y ultraestructural observado en las leucemias agudas monoblásticas, se les considera claramente diferenciables de los mieloblastos. El dato más fidedigno del monoblasto es la existencia de una intensa positividad esterasa inespecífica fluorosensible.

Los promonocitos poseen un tamaño de 15-20 μm y una elevada relación núcleo-citoplasmática. El núcleo, de aspecto morfológico irregular, con pliegues e indentaciones, posee una cromatina algo más condensada que la de su precursor, a pesar de lo cual son visibles uno o dos nucléolos. El citoplasma es intensamente basófilo por su gran riqueza en polirribosomas; puede contener un número variable, aunque generalmente escaso, de granulaciones azurófilas, lo que hace a veces difícil su diferenciación con los promielocitos.

Los monocitos son las células de mayor tamaño halladas en la sangre periférica. El núcleo, situado en posición central, es voluminoso y adopta formas variadas, en herradura, indentado o doblado; la cromatina es densa y con aspecto como peinada en finas franjas cromatínicas, lo cual es característico de estas células. Los monocitos están desprovistos de nucléolos. El citoplasma es amplio con ocasionales mamelones periféricos, de color azul plumizo y contiene un número variable de gránulos azurófilos. Los histiocitos y macrófagos constituyen el último estadio evolutivo de las células del sistema mononuclear fagocítico. Originados a partir de los monocitos sanguíneos, los histiocitos adoptan un aspecto morfológico característico y diferencial dependiendo del tejido u órgano donde finalmente se ubiquen. Los macrófagos son aquellos histiocitos que contienen en su interior restos de material fagocitado. Son fáciles de identificar y se observan con frecuencia en la médula ósea. La secuencia completa de este proceso de monopoyesis puede observarse en la figura 3.

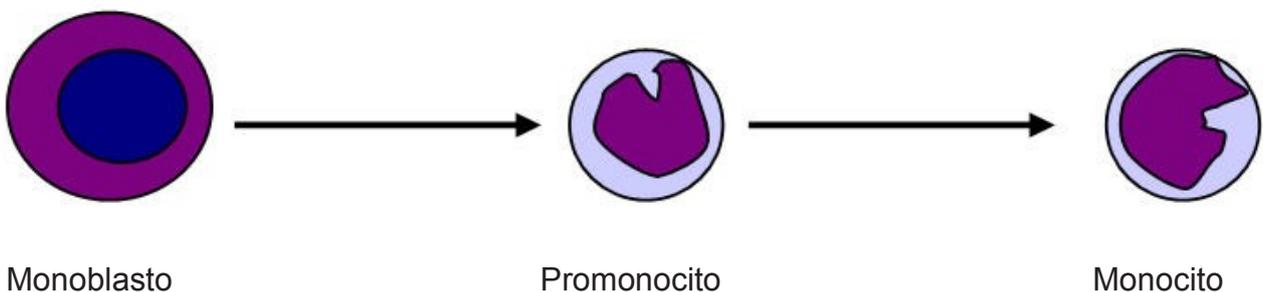


Figura 3. Monopoyesis

1.5. Trombopoyesis

La serie megacariocítica-plaquetar está formada por un conjunto de células, que originadas en la médula ósea a partir de una célula progenitora común con el resto de las células mieloides (Unidades Formadoras de Colonias- Granulocitos, Eritrocitos, Monocitos, Megacariocitos -CFU-GEMM), da origen a las plaquetas de sangre periférica.

Se distinguen cuatro estadios evolutivos: megacarioblasto, elemento más inmaduro, promegacariocito, megacariocito granular y el más maduro el megacariocito liberador de plaquetas. El megacariocito, al desprender porciones citoplasmáticas delimitadas por las membranas de demarcación, como se ha demostrado a nivel estructural, origina las plaquetas de la sangre periférica.

En la serie megacariocítica, a diferencia de lo que ocurre en el resto de las células hematopoyéticas, las divisiones nucleares no van seguidas de las correspondientes divisiones citoplasmáticas, lo que determina la formación de células poliploides de gran tamaño con numerosos núcleos.

En el estadio de megacarioblasto se suceden en número variable las mitosis nucleares, apareciendo las sucesivas ploidías nucleares. Ello se acompaña, gracias a una elevada síntesis de ADN, de un aumento de la talla nuclear. Finalizada esta etapa de síntesis de ADN y duplicación nuclear, se inicia en el citoplasma la granulogénesis que dará origen a las futuras plaquetas sanguíneas.

El promegacarioblasto no tiene identificación morfológica. Es un elemento mononucleado de aspecto a veces pseudolinfoide que precisa para su filiación demostrar la presencia de peroxidasa plaquetar a nivel estructural o del empleo de anticuerpos monoclonales específicos de esta línea. El megacarioblasto es el elemento de menor tamaño de esta serie con un núcleo único, grande, ovalado o bilobulado, con cromatina laxa y numerosos nucléolos. El citoplasma es intensamente basófilo, agranular y puede presentar algunas prolongaciones a modo de pseudópodos.

El promegacariocito inicia ya la granulogénesis en distintas áreas de su citoplasma. Es una célula fácilmente identificable por su gran tamaño y por el aspecto característico de su citoplasma, que posee bordes mal limitados y emite numerosas prolongaciones. El núcleo es multilobulado, con cromatina densa y sin nucléolos. En el citoplasma persiste una tonalidad basófila, cubierta zonalmente por numerosas granulaciones azurófilas.

El megacariocito posee como características más destacables su gran tamaño (80 μm o más) y su elevada ploidía. Se distinguen dos tipos de megacariocitos: el megacariocito granular y el maduro. El granular tiene un núcleo multilobulado, de citoplasma de tonalidad rosada y es de gran tamaño. Los maduros, liberadores de plaquetas, poseen un extenso citoplasma que ha perdido todo resto de basofilia y está cubierto totalmente por granulación azurófila. El núcleo, también multilobulado o segmentado, posee una cromatina condensada sin nucléolos. Los gránulos azurófilos se disponen especialmente en la periferia en cúmulos que irán delimitando las futuras plaquetas. Las plaquetas pasan a la sangre periférica donde ejercen sus funciones en los mecanismos de coagulación. Los trombocitos son los elementos formes de la sangre de menor tamaño (de 2 a 3 μm) y están desprovistos de núcleo, por lo que no se trata de verdaderas células, sino de fragmentos celulares. Su forma fisiológica es discoide, aspecto que se modifica con facilidad por las maniobras de extensión o centrifugación, adquiriendo un aspecto redondeado y emitiendo finas prolongaciones.

La identificación de los elementos megacariocíticos maduros o semimaduros es muy sencilla por simples criterios morfológicos; sin embargo; los precursores megacariocíticos precisan de la reacción de la peroxidasa plaquetar a nivel ultraestructural y de la detección de glicoproteínas de superficie mediante anticuerpos monoclonales. La secuencia completa de este proceso de trombopoyesis puede observarse en la figura 4.

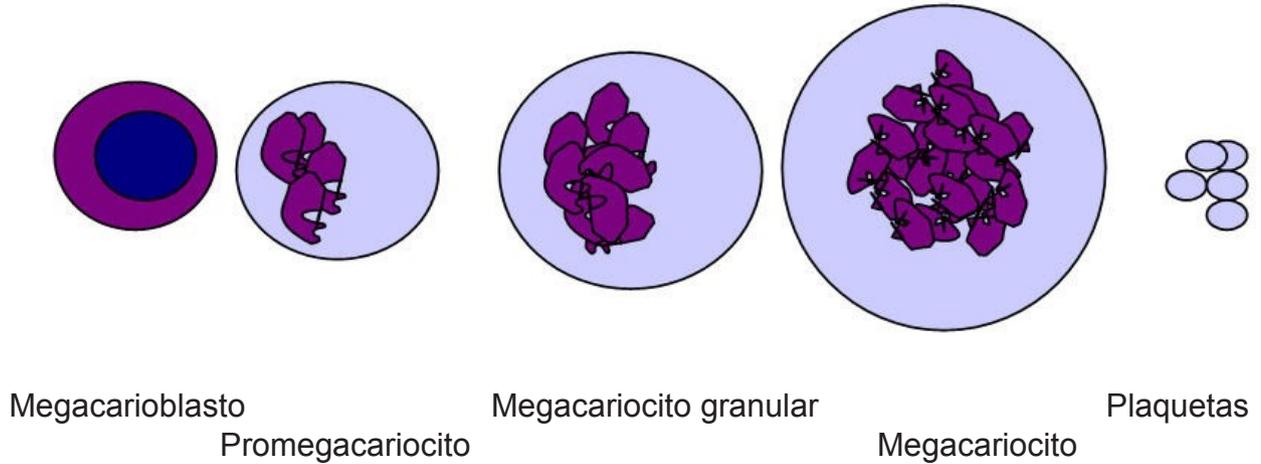


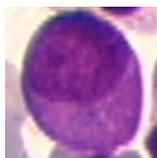
Figura 4. Trombopoyesis.

LÁMINA DE CÉLULAS PRECURSORAS

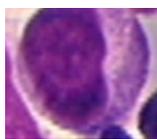
(Teñidas con May Grünwald-Giemsa x100)

LINEA BLANCA

Neutrófilo



Mieloblasto



Promielocito



Mielocito



Metamielocito



Neutrófilo en banda



Neutrófilo segmentado

LINEA ROJA

Eritrocito



Pronormoblasto



Normoblasto basófilo



Normoblasto policromatófilo



Normoblasto oxífilo



Eritrocito

CAPÍTULO 2

El hemograma en la clínica

1. Importancia del Hemograma en la Clínica. Aplicación y uso

La hematología juega un papel destacado en el diagnóstico y control evolutivo de diversas enfermedades, experimentando durante estos últimos años un notable avance debido fundamentalmente al convencimiento del clínico de la importancia que tiene el laboratorio como método complementario de diagnóstico. Entre estos, el hemograma es una ayuda inestimable en la detección y control evolutivo de diversas entidades patológicas. La principal ventaja, radica en que se trata de una vía poco invasiva que sirve para diagnosticar anomalías anatomofisiopatológicas, cuyo hallazgo no sería posible con otros métodos.

Algunas enfermedades afectan primariamente a la sangre y a los tejidos hematopoyéticos, otras afectan diferentes sistemas y producen alteraciones secundarias en ella. Un hemograma correctamente realizado, permite reconocer, localizar y finalmente tratar adecuadamente un gran número de entidades patológicas. Sin embargo, la utilidad de esta prueba es limitada si no se realiza apropiadamente. Un método analítico realizado al azar, no sólo limita las posibilidades diagnósticas, sino que además supone una importante pérdida de tiempo y materiales. Los parámetros que conforman un hemograma constituyen un método eficaz y sólido de análisis. Los resultados del hemograma proporcionan al profesional una extensa base de datos para la valoración del paciente. Ello no sólo garantiza un correcto diagnóstico, sino que reduce las posibilidades de pasar por alto una enfermedad subclínica.

Con el significado de cada uno de los datos individuales y la valoración de todos en su conjunto se forman a menudo patrones o perfiles de enfermedades específicas. Por el contrario, los valores considerados en forma aislada, en general carecen de significado si no se evalúan en conjunto con el resto y en relación con la anamnesis del caso clínico en cuestión. El enfoque de un especialista, consiste en interpretar cada resultado normal o anómalo y en revisar a continuación todos y cada uno de los hallazgos anormales, para finalmente ajustarnos al perfil de una enfermedad. Los resultados del hemograma se correlacionan con los signos clínicos para sugerir el compromiso de un órgano o sistema, la respuesta al tratamiento o la indicación de realizar otro tipo de pruebas de laboratorio (Foto 1).

Para realizar el hemograma se puede utilizar el método tradicional, basado en técnicas manuales, o bien métodos automatizados que cada día van adquiriendo mayor importancia en veterinaria debido, no sólo a la rapidez y simplificación del manejo, sino fundamentalmente a su precisión y exactitud (Foto 2 y 3).

2. Metodología automatizada

Contadores de impedancia para hematología

Descrito y usado por Coulter en 1956, estos cuentan número de células, miden su tamaño y calculan de manera matemática el hematocrito, la concentración de hemoglobina corpuscular media (ChCM) y hemoglobina



Foto 1. Revisación clínica del animal.



Foto 2. Contador celular semiautomático.

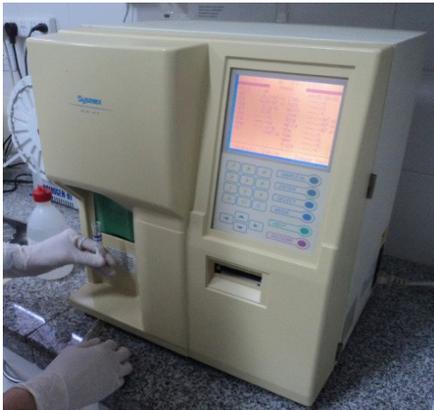


Foto3. Contador automatizado celular.

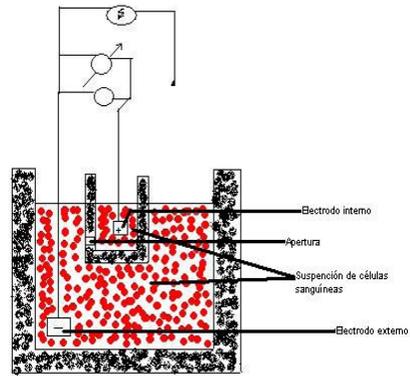


Fig 4. Esquema contador por impedancia.

corpúscular media (HbCM). El contador de impedancia eléctrica trabaja mediante la suspensión de las células sanguíneas en un líquido electrónicamente conductor (Fig. 4). El principio de recuento por impedancia consiste en que las células están diluidas en una solución de electrolitos y pasan a través de una apertura. La resistencia eléctrica a través de esa apertura varía de acuerdo con el tamaño y el número de células que la atraviesan. La frecuencia del cambio en la resistencia indica los números de células y la magnitud del cambio, el tamaño celular.

Se deben inspeccionar los histogramas de plaquetas y de eritrocitos para observar si hay una separación adecuada entre los picos de ambos elementos.

Debe haber una separación neta entre los picos de glóbulos rojos y plaquetas para que los instrumentos de impedancia realicen recuentos exactos.

En presencia de glóbulos rojos (GR) pequeños como en la anemia, plaquetas grandes, o ambos los recuentos pueden ser muy poco precisos. El cambio porcentual en el recuento de plaquetas es mucho mayor que el de GR. Este es un error del laboratorio común que con frecuencia llega al veterinario.

Los contadores de impedancia utilizados en humana, deben ser ajustados de modo electrónico para contar células de diferentes tamaños en función de los umbrales electrónicos establecidos para cada especie, como por ejemplo la sangre felina que posee eritrocitos más pequeños que el humano y agregación plaquetaria frecuente, por lo cual produce más inconvenientes.

El volumen celular agregado (VCA) o compacto (VCC) determinado mediante el método manual del hematocrito y el hematocrito calculado mediante un contador de células electrónicas con frecuencia presentan una leve variación. Si la variación entre ambos métodos supera al 5 % el problema técnico puede ser bastante significativo como para investigarlo. La hemoglobina se determina mediante la densidad óptica de la sangre lisada y se calculan los índices hematimétricos.

Los instrumentos de impedancia automáticos proporcionan datos como el ancho de distribución de los eritrocitos (ADE o RDW por sus siglas en inglés), VPM (volumen plaquetario medio) y la amplitud de distribución de las plaquetas, como así también recuentos parciales de leucocitos.

Los equipos de medicina humana que trabajan por impedancia producen resultados cercanos a lo real cuando se analiza sangre canina. En el caso de los felinos la presencia de macroplaquetas suele producir falsas trombocitopenias al ser “confundidas” por eritrocitos.

En el caso de los leucocitos, los equipos de impedancia producirán un índice de variación menor al 5 % pero los equipo para humanos deben ser calibrados electrónicamente para poder ser usado en conteo diferencial de leucocitos en medicina veterinaria.

Contadores de células mediante láser

Ciertos contadores hematológicos automatizados utilizan un sistema de detección con láser en un citómetro de flujo para medir el tamaño y la complejidad interna de las células sobre la base de la dispersión de la luz en diferentes ángulos.

El principio de trabajo de estos equipos radica en la dispersión de la luz sobre una célula. Las interrupciones del láser pueden ser usadas para el conteo celular, mientras que los cambios en la fracción de la luz brindan información de tamaño celular o complejidad y densidad interna. Es de esta forma que los equipos láser pueden determinar el recuento de eritrocitos, recuento de leucocitos, concentración de hemoglobina, distribución de los eritrocitos, distribución de leucocitos, histogramas de glóbulos rojos y blancos, recuento de plaquetas, volumen plaquetar medio, además el histograma plaquetario, identifica errores como la agregación plaquetar (Gráfico 1).

Ya sea cualquiera de los mencionados sistemas automatizados que estuviera usando, siempre se debe realizar un frotis manual simple para evaluar morfología celular y posibles anomalías que podrían alterar los resultados. Si no cuenta con microscopio o sus conocimientos en hematología no son suficientes, remita el frotis a un hematólogo.

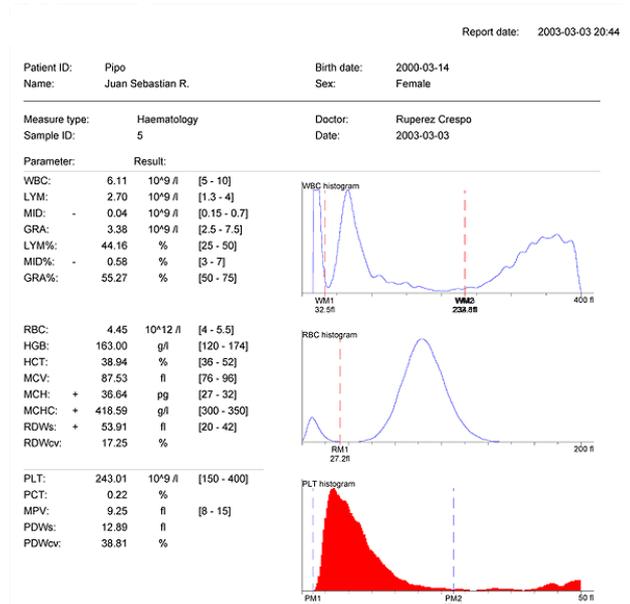


Gráfico 1. Forma en que muestran los resultados los contadores celulares (tablas e histogramas).

Contadores (concentradores) celulares centrífugos

También llamados analizadores *buffy coat* fueron introducidos en los 80's como herramienta alternativa al conteo tradicional. El sistema está basado en la densidad variable de los componentes celulares al ser colocados en un capilar de microhematocrito y ser sometidos a centrifugación. Un flotador cilíndrico específicamente colocado entre la capa de eritrocitos y el plasma expande en distintas capas los componentes leucocitarios. Por último, la diferenciación se logra mediante el uso de reactivos y colorantes (naranja de acridina, oxalato potásico y un anticuerpo monoclonal) que cubren internamente el tubo o capilar.

Los componentes una vez teñidos son expuestos a una fuente de luz azul violeta y la fluorescencia permite distinguir los componentes celulares. Los resultados contenidos comprenden hematocrito, hemoglobina, número de células rojas, número de leucocitos, granulocitos totales, neutrófilos, eosinófilos y porcentaje de reticulocitos.

Estos equipos son fáciles de usar y son los más accesibles para el uso en perro, gato, caballo y vacuno. Los resultados se obtienen en pocos minutos, aunque algunas veces especialmente en gatos, se requiere una segunda centrifugación de la muestra para producir una adecuada separación de las capas. Muchos errores pueden ser detectados mediante los gráficos de *buffy coat* que proporciona el equipo. Otras anomalías como son la microcitosis, hipocromasia o células inmaduras invalidan los resultados inmediatamente.

Alarmas de los contadores hematológicos

Las alarmas que proporcionan los contadores hematológicos identifican qué especímenes requieren una revisión o un estudio posterior. Los contadores hematológicos se programan para proporcionar diversas alarmas que pueden agruparse en: cualitativas, cuantitativas, útiles y deseables. Las principales alarmas cualitativas son las de blastos, células anormales, desviación a la izquierda y granulocitos inmaduros. Estas alarmas son básicas en el concepto de detección sistemática. Las alarmas de los blastos y otras células anómalas son generalmente muy sensibles, por lo que a menudo se obtienen resultados positivos falsos. Las alarmas cuantitativas se basan en datos del recuento. Las principales alarmas de éste tipo son las de anemia/policitemia, leucopenia/leucocitosis, trombocitopenia/trombocitosis y otras derivadas de los índices eritrocitarios. Las alarmas denominadas útiles son las relacionadas principalmente con problemas clínicos relativamente menores, en comparación con las alarmas cualitativas obligadas. Pueden ser muy útiles para el programa del control de calidad interno, pues apuntan a condiciones que afectan adversamente al recuento sanguíneo. Las principales alarmas de este tipo se refieren a la anisocitosis, el tamaño de las plaquetas, dos poblaciones de eritrocitos, la aglutinación de los eritrocitos, la aglutinación de plaquetas y las hemoglobinas anormales. Las alarmas deseables corresponden a la eosinofilia, los eritrocitos nucleados, las células drepanocíticas, la esferocitosis y los fragmentos de eritrocitos.

3. Materiales y equipamiento

A continuación se detallarán las particularidades más relevantes del método manual utilizado, el cual podrá implementarse cuando no se disponga de contador celular.

3.1. Toma de muestra

El equipo mínimo necesario en la obtención de muestras para realizar un hemograma es:

- Jeringas estériles descartables de 3 o 5 ml.
- Agujas estériles descartables: N 21 x 1G, 21 x 1,5G.
- Tubos comerciales con tapa color generalmente violeta con EDTA de 1 ml de capacidad. En caso de ser preparados en el laboratorio se colocan 15 µl de EDTA por cada ml de sangre.
- Capilares para microhematocrito sin heparinizar.
- Elementos para preparación de la zona de venopunción (máquina peladora, algodón y alcohol) (Foto 4).
- Cajas de telgopor con refrigerante para el transporte de las muestras a 4 °C.

3.2. Procesamiento de la muestra

Los materiales y equipamiento (Foto 5) para realizar un hemograma son:

Material de laboratorio:

- Microscopio binocular de muy buena resolución (x10, x40, x100).
- Microcentrífuga con lector incorporado (ábaco) o sin él.
- Lector (ábaco) para microhematocrito.
- Refractómetro
- Micropipetas graduadas de 10 a 100 µl
- Pipetas graduadas vidrio de 1 ml, 2 ml y 5 ml con propipetas o pipetas automáticas graduadas de 100 a 1000 µl o de 1000 a 5000 µl con sus correspondiente medidas de tips.
- Tubos de hemólisis para realizar las diluciones.
- Gradillas.
- Portaobjetos y cubreobjetos (20x20).
- Aceite de inmersión.
- Extensores (portaobjetos con el extremo romo).
- Cámara de Neubauer modificada y cubrecámara.
- Reloj y cronómetro.
- Baño termostático.

Diluyentes:

- Solución fisiológica, para dilución de glóbulos rojos.
- Solución de Türk, para dilución de glóbulos blancos.

Colorantes:

- Giemsa
- May Grünwald
- Azul brillante de cresil (o Azul de metileno Nuevo)
- Eosina



Foto 4. Máquina peladora y elementos para venopunción.

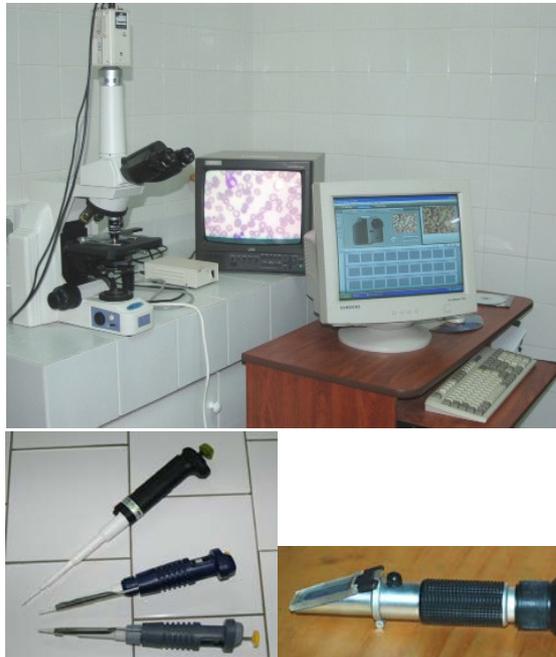


Foto 5 A: Microscopio, B: Micropipetas automáticas y C: Refractómetro

4. Normas de bioseguridad

En un laboratorio de hematología, el material que se recibe, debe considerarse como potencialmente de riesgo; en especial si proviene de animales con sospecha de enfermedades zoonóticas (leptospirosis, brucelosis, etc.).

Las dos precauciones de seguridad más importantes en el laboratorio son:

Usar guantes y ropa protectora (guardapolvo) permanentemente.

Lavarse las manos con frecuencia. Al retirar los guantes se procede al lavado de manos con un detergente eficaz; el lavado debería realizarse luego de cada tanda de trabajo.

No se deben manipular picaportes, elementos de escritura, teléfonos u otro equipamiento mientras se está trabajando: no se deben tocar áreas desprotegidas del cuerpo (como los ojos o boca) mientras se trabaja.

Siempre se debe usar ropa protectora (guardapolvo), la cual debe permanecer en el lugar de trabajo para su desinfección en el autoclave (es el método más eficaz y confiable).

Cuando se trabaja con agentes infecciosos o cáusticos, se indica el uso de anteojos y barbijo.

No se permite el ingreso de comida a las áreas de recolección de muestras o manipulación de las mismas. El pipeteado de reactivo debe realizarse con instrumentos como propipetas o dispensadores graduados, nunca con la boca. Luego de usar las pipetas se colocan en un pipetero con solución desinfectante (agua + lavandina).

Todo el material de vidrio utilizado debe enjuagarse y colocarse en un recipiente con lavandina diluida en forma separada durante 24 horas. Luego proceder al lavado con detergente no iónico, enjuagado tres veces con agua destilada y finalmente colocarlo en estufa de secado. Las superficies de trabajo deben descontaminarse con un desinfectante, luego de un derrame de material y una vez terminada la actividad, para lo cual se usa hipoclorito de sodio al 0,52 % (lavandina doméstica).

En la recolección de residuos se usan recipientes de material estable con bolsas de color rojo para residuos

patológicos (guantes, tubos para hemograma, sangre o suero). Es necesario descontaminar también los materiales de extracción con hipoclorito de sodio al 0,52 % (lavandina doméstica) antes de ser descartados y así transformarlos en derivados inocuos, permitiendo así su recolección. Para el caso de agujas utilizar el descartador de las mismas que es solicitado a empresas que se encargan de la incineración de residuos patológicos como por ej. LAMCEF (0221 4271085/1118- 4230701/0863).

Los elementos no descartables deben descontaminarse con germicidas químicos adecuados y aprobados por *Environmental Protection Agency*.

5. Toma de muestras

La toma de una muestra para realizar un diagnóstico complementario cualquiera sea éste, es el primer paso en un análisis, por lo tanto su importancia es capital, ya que eso influirá decididamente sobre la marcha futura de su procesamiento. Esto lógicamente se hará extensivo a los resultados del laboratorio, al diagnóstico clínico y al tratamiento del animal y por lo tanto en el éxito o no de la resolución del problema.

5.1. Sitios de punción

En caninos, el sitio de elección es la vena cefálica antebraquial, o la safena y en felinos o caninos de pequeña talla es la vena yugular (Fotos 6, 7 y 8).

5.2. Procedimiento de obtención de sangre para realizar un hemograma

Una vez que se realizó la sujeción del animal con bozal, la zona de venopunción deberá ser prolijamente rasurada y se realiza la antisepsia con soluciones apropiadas, luego se procede a la ingurgitación de la vena a través de un manguito de goma o la compresión con una mano a la altura de la articulación húmero radio-cubital o la articulación fémoro-tibio-rotuliana. Para la extracción en la vena yugular se realizará con el animal sentado sujeto sobre una camilla con los miembros delanteros presionado hacia abajo sobre el borde de la misma y la cabeza estirada hacia arriba (posición de esfinge) (Foto 9) depilándose la zona lateral del cuello e ingurgitando la vena ejerciendo una leve presión con los dedos índice y mayor.

En pequeños animales, como ya se mencionó, la jeringa será de 3 o 5 ml. Las agujas que se utilizan son preferentemente de 21x1G o 21x1,5G, ya que las de mayor calibre provocan turbulencias de la sangre en su pasaje por la misma con la producción de hemólisis y además podrían dañar las paredes del vaso sanguíneo; en cambio, las de menor calibre enlentecen el paso de la sangre ocasionando la formación de microcoágulos que harían descartar la muestra.

Es muy importante recalcar que los glóbulos rojos de los pequeños animales tienen una marcada fragilidad globular, debido a ello, se rompen con gran facilidad si la técnica de extracción no es cuidadosa.

Una vez localizada e ingurgitada la vena, se realiza la venopunción con el bisel de la aguja hacia arriba. La mejor forma de penetrar el vaso es por lateral del mismo. Conviene dejar una mínima luz entre el fondo de la camiseta de la jeringa y el émbolo de la misma, esto permitirá que independientemente de la talla del animal o el



Foto 6. Toma de muestra de la vena antebraquial en caninos.



Foto 7. Toma de muestra de la vena safena en caninos.



Foto 8. Toma de muestra de la vena yugular en caninos.



Foto 9. Toma de muestra de la vena yugular en felinos.

estado en que se encuentre clínicamente, al penetrar con la aguja la vena, una cantidad mínima de sangre entrará por el pico de la aguja y se observará en ese espacio. En ese momento tendremos la seguridad de estar en vena.

Hay que tener la precaución de no hacer una maniobra rápida y no traspasar el vaso sanguíneo, ya que al aspirar con el émbolo hacia atrás no obtendremos sangre y luego, al retirar la aguja, se formará un hematoma subcutáneo, con el consiguiente descarte de la zona para repetir la maniobra.

Una vez lograda la correcta venopunción se deberá hacer una aspiración lenta y moderada, ya que se producirán dos efectos negativos:

- a. la excesiva presión negativa colapsará las paredes del vaso (efecto pared), que obstruirá el bisel de la aguja y no permitirá el ingreso de sangre hacia el pico de la jeringa aunque estemos en el vaso sanguíneo.
- b. al soltar el émbolo de la jeringa y disminuir la presión negativa, ingresará algo de sangre, pero esta excesiva presión producirá hemólisis, lo que hará que la muestra se deba descartar.

Habiendo hecho esta aclaración, una vez obtenida la muestra de sangre, se retira la aguja y un ayudante o el propietario del paciente harán presión suave (nunca frotar) sobre el sitio de punción con un algodón, para favorecer la hemostasia primaria (vascular) y evitar la formación de un hematoma en el sitio de venopunción. Paralelamente se retira la aguja de la jeringa y se extravasa la sangre a un tubo con anticoagulante, a éste se le hará inmediata-

mente movimientos rotatorios de muñeca para una correcta homogeneización de la sangre con el anticoagulante.

En el caso que en la jeringa queden burbujas de sangre, éstas no deberán extravasarse al tubo con anticoagulante, sino que se descartarán ya que constituyen una pequeña cantidad de sangre y al forzar su paso por el pico de la jeringa se producirá hemólisis.

A menos que el animal sea excesivamente agresivo e inquieto, no se recomienda el uso de tranquilizantes, ya que alteran los resultados sobre los elementos sanguíneos. Este es el caso de los barbitúricos que producen disminución del volumen circulante de elementos formes. En estas circunstancias se producirán valores falsamente disminuidos. Aquellos animales que se estresen por las maniobras de extracción, podrían brindar valores falsamente elevados de hematocrito, del número de glóbulos rojos, así como también una leve leucocitosis.

Los tubos para la obtención de muestras pueden estar listos para su uso (comerciales) o prepararse previamente con la dosis adecuada de anticoagulante. Es importante mantener una relación sangre - anticoagulante como se detallará más adelante cuando se refiera a los diferentes anticoagulantes. Esto es muy importante porque en el caso de un animal de pequeño porte o en mal estado general las cantidades de sangre que pueden obtenerse son muy escasas, entonces se modificará la relación de sangre - anticoagulante alterándose los conteos celulares, produciendo valores falsamente disminuidos por la dilución producida por el exceso de anticoagulante. En el caso contrario el efecto producido será la aparición de microcoágulos o se coagulará la muestra. Una consideración muy importante es el tiempo que transcurre entre la obtención de la muestra y su procesado para el hemograma. Lo ideal sería no pasar más de tres horas entre la extracción de sangre y su procesado, pero una muestra podría conservarse hasta 24 h en forma refrigerada a 4 °C (nunca congelar, ya que se destruirían todos los elementos celulares). En caso de remitir a un laboratorio a cierta distancia, se enviará la muestra dentro de una caja de telgopor, con refrigerante y tendrá que llegar a destino no más allá de las 24 h, el motivo de esto es que los eritrocitos y leucocitos sometidos a una presión osmótica no fisiológica, sufrirán deformaciones y posteriormente hemólisis, hecho que dificultará su identificación en un frotis teñido.

6. Anticoagulantes

Los más utilizados para hematología son:

6.1. Acido etilen diamino tetracético (EDTA)

Existe como solución sódica o dipotásica, siendo esta última la más recomendable por su mayor solubilidad (Foto 10).

Concentraciones de uso:

Se lo utiliza en solución al 10 %. En esta concentración se colocan 15 µl por cada 1 ml de sangre.

Ventajas:

- Es muy buen preservador celular desde el punto de vista osmótico y por ende morfológico.
- Se lo puede usar para todas las pruebas de hematología, excepto para las de hemostasia, pues para ellas se debe usar sangre citratada (ver 5.2).
- Su costo es comparativamente el más bajo.

Desventajas:

· A altas concentraciones (mayores de 2 mg por ml) produce una elevada presión osmótica con la consiguiente deshidratación globular y por lo tanto una disminución del hematocrito, junto con un volumen corpuscular medio (VCM) disminuido y alteraciones morfológicas de los glóbulos rojos.

NOTA: Diferenciar las sales sódicas y dipotásicas del EDTA cálcico, que no es un anticoagulante, sino que se usa en el tratamiento de la intoxicación con plomo (Sodio Calcio Edetato).

6.2. Citrato sódico o trisódico

Es un anticoagulante usado para la rutina clínica de las pruebas de coagulación (tiempo de protrombina y tiempo de tromboplastina parcial activada) y en la determinación de la velocidad de eritrosedimentación por el método de Westergreen (Foto 11).

También se lo utiliza para la preservación de sangre para transfusiones en la forma de Citrato Disódico Hidrogenado más Dextrosa (CPDA).

Concentraciones de uso:

Para la realización de la velocidad de eritrosedimentación se utiliza a razón de una parte de anticoagulante en cuatro partes de sangre. Ejemplo: 140 µl cada 1,5 ml de sangre.

Para la realización de pruebas de hemostasia se lo utiliza a razón de una parte de anticoagulante en nueve partes de sangre. Ejemplo: 100 µl de anticoagulante + 1 ml de sangre.



Foto 10. Tubos comerciales con EDTA para distintos volúmenes de muestra.



Foto 11. Tubos comerciales con citrato de sodio al 3,8 % para distintos volúmenes de muestra.

CAPÍTULO 3

Técnicas para realizar un hemograma

Introducción

El término hemograma incluye los siguientes parámetros.

- * Recuento de glóbulos rojos
- * Recuento de glóbulos blancos
- * Hematocrito
- * Dosaje de la concentración de hemoglobina
- * Índices hematimétricos
- * Frotis sanguíneo (Fórmula leucocitaria relativa)

El frotis sanguíneo además permite la observación de las características morfológicas de los elementos formes de la sangre y la presencia de bacterias o parásitos en sangre.

El recuento de plaquetas (este tópico será abordado en hemostasia) sólo se incluye en el hemograma cuando la muestra es procesada en contadores automatizados.

La solicitud de un hemograma es sin duda una gran ayuda para el diagnóstico, tratamiento y pronóstico de un gran número de enfermedades. Su interpretación debe realizarse en conjunto con los datos recopilados en la anamnesis y examen clínico del paciente, sin los cuales cualquier tipo de investigación de laboratorio puede ser inútil e inclusive confusa.

1. Eritrocitos, hematíes o glóbulos rojos

Constituyen la mayoría de los elementos figurados de la sangre y son las células que le otorgan a ésta, su color rojo característico.

Formas según la especie

Caninos: Tienen forma bicóncava discoidal, aparecen en los frotis con una zona central más pálida.

Felinos: Es muy similar la forma pero la zona central no es tan evidente. Se tiñen homogéneamente y es característica la presencia de anisocitosis. En el 1 % se observan cuerpos o corpúsculos de Howell-Jolly y hasta un 5 % de cuerpos de Heinz.

La forma de los eritrocitos es muy sensible a las variaciones del medio ambiente. Si se encuentran en soluciones hipotónicas, se hinchan y se hacen uniconvexos, pudiendo llegar a romperse quedando sólo la membrana vacía (fantasmas) mientras que en soluciones hipertónicas, pierden agua y presentan formas espinosas con espículas distribuidas uniformemente en su superficie. A este cambio de forma se lo denomina crenocito.

Tamaño de los eritrocitos

Cada especie animal tiene un tamaño promedio normal. El eritrocito que presenta un tamaño dentro de los límites normales considerados para su especie, se lo denomina normocito. Por debajo de ese límite, se denomina microcito y por encima macrocito.

Cantidad de eritrocitos

El número de eritrocitos se mide en millones por microlitro (μl). Esta cantidad es variable para cada especie doméstica. Se puede decir que las especies que tienen glóbulos rojos de mayor tamaño, presentan menor cantidad de ellos y a la inversa (Tabla 1).

Tabla 1. Cantidad y tamaño de los eritrocitos en pequeños animales.

Especie animal	Cantidad (Millones x μl)	Tamaño (μm)
Canino	5,5 – 8,5	7,0
Felino	5,5 – 10,0	5,8

Recuento de glóbulos rojos

El recuento de los glóbulos rojos puede realizarse por medio de procedimientos tradicionales con la cámara cuenta glóbulos de Neubauer modificada (Foto 12) o utilizando métodos automatizados a través de contadores celulares electrónicos (impedancia eléctrica, centrífugos Q BC-U [Becton Dickinson], de rayo láser).

La utilización de los contadores celulares de impedancia eléctrica diseñados en un principio para hematología humana, no son útiles para recuentos en veterinaria, aunque quizás de entre las especies domésticas solo se podrían utilizar en recuento con sangre canina. Con sangre felina hay que recordar que existe superposición de tamaño entre las plaquetas y los eritrocitos. La obtención de recuentos celulares con analizadores de humana, sin realizar adaptación a través de software para veterinaria, se traducen en una disminución del recuento de eritrocitos, así como en un aumento del volumen corpuscular medio y del valor del hematocrito.

Uno de los parámetros nuevos que aportan los analizadores es la determinación del ancho de la distribución de los eritrocitos (RDW), parámetro que mide la anisocitosis eritrocitaria.

La precisión con analizadores hematológico para recuento y su error varía entre el 2 y el 5 %. En este texto solo se explicará la metodología manual.

Procedimiento

El proceso lleva dos etapas:

- 1) dilución exacta de la muestra que se va a estudiar
- 2) recuento de los elementos, por unidad de volumen

La dilución de la sangre se realiza con micropipetas de volumen fijo o variable de 10 a 100 μl , se coloca en

un tubo de hemólisis 2 ml de diluyente (solución fisiológica -SF-) + 10 µl de la muestra y se homogeneiza.

El conteo se realiza en la Cámara de Neubauer modificada. La misma presenta un retículo central con una superficie total de 9 mm² dividida en 9 cuadrados, de 1 mm² c/u. Los cuadrados de las 4 esquinas están subdivididos en 16 cuadrados (por líneas simples), mientras que el cuadrado central se encuentra dividido en 25 cuadrados menores (demarcados por líneas triples). Cada uno de estos 25 cuadrados menores, está subdividido en 16 cuadraditos más pequeños (demarcados por líneas simples) (Fig. 5).

Para realizar el conteo, por encima de la plataforma de la cámara se coloca el cubre cámara, humedeciendo previamente los bordes laterales de la misma (donde apoyará éste) y ejerciendo una ligera presión con los dedos pulgares sobre estos lugares para que quede fijo. Esto se comprueba observando hacia una fuente de luz en forma oblicua, donde se deben evidenciar los anillos de Newton producidos por la difracción de los rayos de luz (la incorrecta colocación del cubrecámara es la causa de error más frecuente en el conteo) (Fig. 6).

La superficie ocupada por los cuadraditos donde realizaremos el conteo es de 1 mm² y la lámina que los cubre deja exactamente una altura de 0,1 mm, por lo que se tiene un volumen de 0,1 mm³. Se carga la cámara por capilaridad, apoyando en forma perpendicular un microcapilar o mediante una micropipeta que contienen la muestra diluida bien homogeneizada, sobre unos de los bordes superiores del cubrecámara. Se deja en reposo 1 minuto para que sedimenten los glóbulos rojos.

Se cuentan los glóbulos rojos contenidos en 80 cuadraditos, es decir 5 cuadrados de 16 cuadraditos cada uno, de los que se encuentran en el reticulado central. Se prefiere contar los cuatro cuadrados de los extremos y el del centro del retículo (Fig. 5). Es necesario seguir un esquema de conteo, en forma de guarda griega. Por lo general éste se efectúa de la siguiente manera: se cuentan todos los elementos celulares que se encuentran en el centro de cada cuadradito y los que tocan los bordes izquierdo e inferior de los mismos, descartando los que

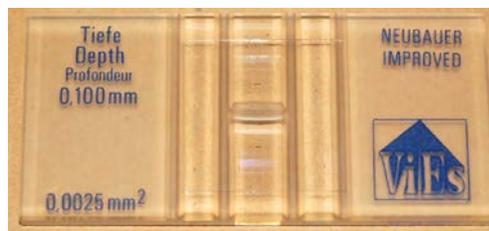


Foto 12. Cámara de Neubauer modificada

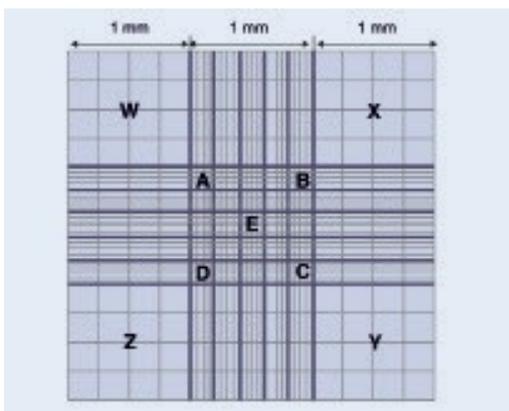


Figura 5. Modalidad de conteo

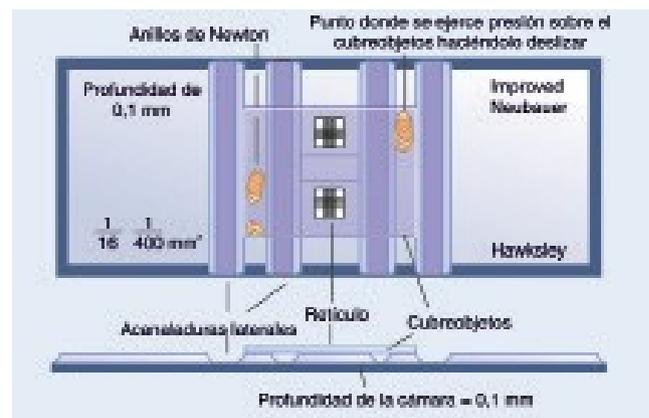


Figura 6. Esquema de cámara de Neubauer.

están en contacto con los bordes derecho y superior. De esta manera se evita contar dos veces una misma célula que se encuentre en un límite. La técnica del analista es muy importante en este método manual. El coeficiente de variación hallado en el recuento de eritrocitos es del 11 %.

Obtención del resultado

Una vez realizado el conteo de los 5 cuadrados de 16 cuadraditos cada uno, se debe realizar el siguiente cálculo:

Si se considera que el retículo central tiene 400 cuadraditos (25 X 16)

$$\frac{n^{\circ} \text{ contado} \times 200 \times 10 \times 400}{80} = n^{\circ} \text{ contado} \times 10.000$$

n° contado: número de eritrocitos contados

200: título de la dilución realizada

10: corrección de la profundidad de la cámara para llevar a 1 mm³

400: total de cuadraditos de la cámara

80: total de cuadraditos contados (5 de 16 cada uno)

Por lo tanto la cantidad de glóbulos rojos leídos en los 5 cuadrados multiplicando por 10.000 (surge de la simplificación de la fórmula anterior) nos dará la cifra correspondiente al total de eritrocitos en un µl de sangre.

Interpretación

El aumento (que se denomina policitemia o poliglobulia) o la disminución (anemia) pueden deberse a muchas y variadas causas y por si sólo este dato no ofrece mayor relevancia, pero sí acompañado de los resultados del hematocrito y la concentración de hemoglobina, por lo que luego de explicar éstos, realizaremos un análisis de las posibles causas de estas alteraciones.

2. Dosaje de la concentración de hemoglobina

La hemoglobina (Hb) es una proteína conjugada formada por una globina y un grupo prostético denominado hem. Es un pigmento rojo que contiene hierro al estado ferroso y al que le corresponde la función fisiológica del transporte de oxígeno y del anhídrido carbónico. Alrededor del 33 % de la célula roja está constituida por Hb que tiene un peso molecular de 64 KDa con un 0,347 % de hierro y que es capaz de ligar una molécula de oxígeno gaseoso por equivalente. Cuando la Hb se expone a la acción de varios gases o agentes tóxicos sobrevienen cambios en su constitución que resultarán reversibles o irreversibles. Tanto la hemoglobina como estos compuestos (oxiHb, carboxiHb, metaHb y vestigios de sulfoHb) pueden identificarse por espectrofotometría por métodos colorimétricos los cuales se basan en comparar una solución estándar de Hb con una concentración conocida que al reaccionar con un reactivo en las mismas condiciones que la muestra a determinar dan un cromógeno de color que se lee en un espectrofotómetro a una longitud de onda determinada. Una vez leídas las absorbancia

o densidades ópticas de ambas se realiza un cálculo matemático y así obtendremos la concentración de Hb de la muestra a determinar.

2.1. Método para el dosaje de hemoglobina

Método automatizado

El contenido de hemoglobina puede realizarse mediante determinación colorimétrica por el método de diferenciación del complejo de la hemoglobina-hidroxilamina más reciente y libre de cianuro. La medición de hemoglobina ha sido sustituida en la mayoría de los laboratorios por la determinación a través de contadores celulares, luego de agregar el lisante celular en la dilución de conteo. La concentración de hemoglobina varía según la especie animal (Tabla 2).

Método manual de dosaje de hemoglobina

El contenido de hemoglobina se realizaba mediante determinación colorimétrica por la técnica de la ciano-metahemoglobina. En esta se utilizaba el reactivo de Drabkin (bicarbonato de sodio + cianuro potásico + ferrocianuro potásico + agua destilada), entre los factores por los cuales se ha dejado de utilizar esta metodología se encuentra la falta de disponibilidad del reactivo por su toxicidad.

Tabla 2. Valores de referencia de la Hemoglobina en pequeños animales.

Parámetro	Unidades	Caninos	Felinos
Hemoglobina	(g/l)	12 – 18	8 - 15

2.2. Interpretación Clínica

El cuadro más comúnmente relacionado con la disminución de hemoglobina sérica es la anemia. Esta patología, por definición, implica reducción por debajo de lo normal del número de glóbulos rojos, de la concentración de hemoglobina y del volumen celular compacto (Hto). La baja concentración de Hb y consecuentemente pérdida de la capacidad de transporte de oxígeno en sangre, son los rasgos característicos del cuadro clínico y constituyen la base patológica de los signos que se presentan (disnea, taquicardia y debilidad).

En la mayoría de los casos la anemia ocurre como signo o complicación de otra enfermedad, a veces no relacionada directamente con el trastorno en el sistema sanguíneo, como alteraciones hepáticas o renales, infecciones, etc. Por lo tanto el hallazgo de niveles disminuidos de hemoglobina sérica debe conducir a una exhaustiva búsqueda de la causa.

Existen ocasiones en las que, por el contrario, la concentración de hemoglobina se encuentra anormalmente elevada debido a una superproducción de glóbulos rojos. Este trastorno puede ser primario (policitemia vera), o secundario a ciertos tumores renales u ováricos, hepatoma o hidronefrosis (policitemia relativa), no obstante no es un cuadro clínico frecuente en la clínica de pequeños animales. La única condición natural y fisiológica que afecta los niveles de Hb es la altitud, puesto que frente a bajas presiones de oxígeno atmosférico se produce una compensación mediante el incremento de glóbulos rojos y por ende, en la concentración de Hb circulante.

En general debe tenerse en cuenta que un aumento excesivo de la concentración de Hb circulante produce

efectos tóxicos sobre los túbulos renales que pueden conducir a daño renal severo. La interpretación en conjunto del Hto y la Hb, nos indican en forma precisa la relación de glóbulos rojos en la sangre circulante, permitiendo confirmar la presencia de una anemia.

La anemia es causada por muchos factores, incluyendo la pérdida aguda y crónica de sangre, parasitismo, insuficiencia renal, enfermedades inflamatorias crónicas, deficiencias de hierro, cobre o vitamina B12 y las neoplasias hematopoyéticas entre otras causas. Por el contrario, el incremento de glóbulos rojos circulantes (policitemia) es raro, presentándose en la policitemia vera y en casos de deshidratación.

3. Hematocrito

Mediante esta prueba se realiza la separación de la sangre no coagulada contenida en un tubo capilar en tres capas, por centrifugación. Las partículas más pesadas, los glóbulos rojos, se depositan en el fondo, los leucocitos y las plaquetas forman una capa sobre ellos (llamada *buffy coat*) y la capa superior es el plasma.

Es una prueba sencilla de realizar y rápida de realizar que brinda información sobre el porcentaje de sangre ocupado por los hematíes, es decir el volumen celular compacto (VCC).

3.1. Método de microhematocrito

El equipamiento necesario es el siguiente:

- 1) una microcentrífuga de 10.000 r.p.m. (con o sin ábaco incorporado)
- 2) tubos capilares de 7,5 cm de longitud con un ancho uniforme de un milímetro. Estos deben ser de vidrio con bajo punto de fusión y las paredes de los tubos deben tener de 0,2 a 0,25 mm de espesor. Existen dos tipos en el mercado
 - a) heparinizado para utilizarlos con sangre directamente recogida y generalmente codificados de color rojo.
 - b) sin heparinizar, para ser usados con muestras anticoaguladas y codificados de color azul.
- 3) Arcilla plástica para sellar los tubos o un mechero Bunsen para sellarlos con calor.
- 4) Lector de hematocrito (ábaco).

Procedimiento

- 1) Homogeneizar la sangre anticoagulada como mínimo a través de 6 movimientos rotatorios, sin agitar.
- 2) Llenar el microcapilar por capilaridad, introduciendo uno de los extremos en la sangre e inclinando el otro extremo hacia abajo. Se deben llenar hasta las dos terceras partes y no más de las tres cuartas partes.
- 3) Se retira el microcapilar de la sangre y se elimina cualquier traza de sangre de su superficie externa con un papel *tissue*.
- 4) Sellar el extremo seco del tubo de sangre con el sellador de arcilla o sellado al calor con una llama de gas, evitando que la sangre quede cerca de la llama para no provocar la hemólisis.
- 5) Colocar los capilares llenos en las ranuras radiales del cabezal de la microcentrífuga con el extremo sellado en el borde exterior. Centrifugar durante 5 minutos.

6) Con un lector de hematocrito (ábaco) alinear la base de la sangre de la columna con el cero y la parte inferior del menisco del plasma con el 100.

7) La columna de glóbulos rojos se extiende desde la base hasta la capa amarilla o blancuzca de leucocitos pero no la incluye. El valor del hematocrito se toma directamente del lector; los valores difieren según especie (Tabla 3).

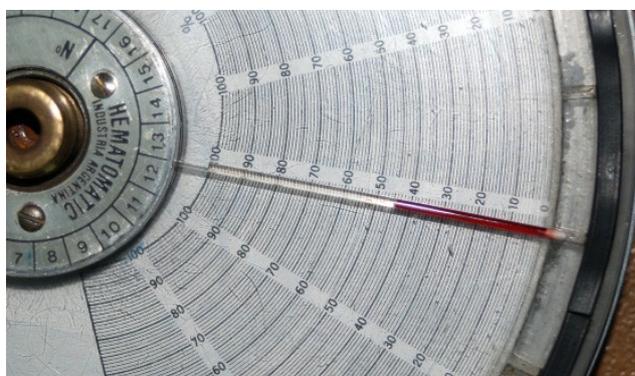


Foto 13. Lectura del hematocrito en microcentrífuga con ábaco incorporado.

8) Efectuar la lectura en porcentaje (Foto 13).

El método automatizado nos da el valor del volumen corpuscular medio y a partir de él, se extrapola el valor del hematocrito.

Tabla 3. Valores de referencia del Hematocrito en pequeños animales

Parámetro	Unidades	Caninos	Felinos
Hematocrito	%	45 (37-55)	37 (24-45)

3.2. Interpretación

1) Alteraciones del volumen celular compacto (VCC).

Una disminución del VCC indica la presencia de anemia.

2) Alteración en el grosor del *buffy coat*.

Nos indica principalmente una alteración en el número de leucocitos que será verificada a través del recuento.

3) Alteración en el color del *buffy coat*.

En ocasiones la parte inferior del *buffy coat* puede tener un aspecto rojizo debido a la presencia de gran número de glóbulos rojos anormales (leptocitos) o inmaduros (hematíes nucleados o reticulocitos). Estas células no se apilan y por ello no sedimentan tan rápidamente como los hematíes normales, se acumulan en la capa superior de los glóbulos rojos y se entremezclan con la capa inferior del *buffy coat*.

4) Alteraciones en el color del plasma.

La parte superior del plasma es generalmente translúcido en la sangre de caninos y felinos.

a) Aspecto lechoso debido a una hiperlipemia, se observa en animales alimentados dentro de las tres horas de la extracción de la muestra. Si los animales estaban en ayunas se sugiere la existencia de desórdenes lipídicos.

b) Coloración rojiza debido a una hemólisis (anemia hemolítica) o generalmente por una inapropiada maniobra de extracción o de traslado de la muestra.

c) Coloración amarilla debido a la presencia de bilirrubina (muestra icterica).

El valor hematocrito debería compararse además con otros elementos no difusibles de la sangre: los sólidos totales. Estos se miden a través de un refractómetro y constituyen una medida de las proteínas plasmáticas.

Medición de sólidos totales mediante refractómetro

La medición de sólidos totales mediante refractometría (Foto 14 A, B y C) a partir del capilar de microhematocrito.

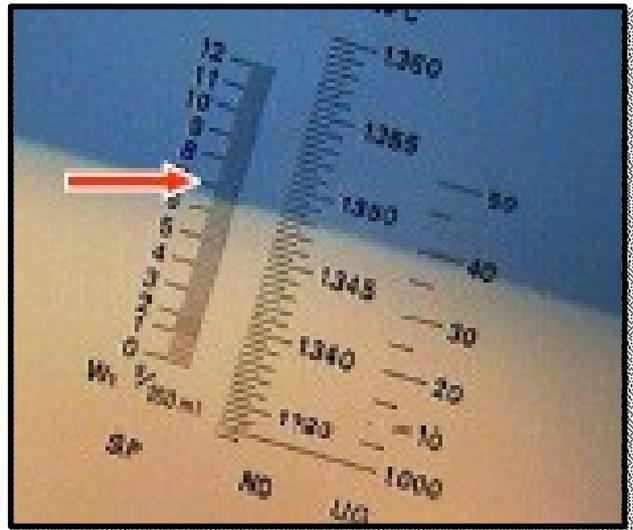
- 1) Se corta el capilar justo por encima del *buffy coat*.
 - 2) Se colocan unas gotas de plasma sobre la zona de lectura del refractómetro.
 - 3) Se realiza la lectura en la escala de la izquierda graduada de 0 a 12.
- La forma de interpretación se muestra en la tabla 4.



A) Microhematocrito.



B) Colocación en la zona de lectura.



C) Lectura en la escala izquierda.

Foto 14 Medición de sólidos totales A,B,C.

Tabla 4. Interpretación del hematocrito en comparación con los sólidos totales

		Hematocrito		
		<i>Bajo</i>	<i>Normal</i>	<i>Elevado</i>
Sólidos totales (proteínas)	<i>Reducido</i>	hemorragia activa	pérdida de proteínas	¿pérdida de proteínas con contracción esplénica?
	<i>Normal</i>	anemia	sin alteración	
	<i>Aumentado</i>	Anemia + enfermedad infecciosa, neoplasia	¿anemia enmascarada por deshidratación?	deshidratación

Otro dato que podemos obtener del microhematocrito, es la observación de microfilarias. Para realizar esto se debe dejar reposar el microhematocrito durante 30-40 min, luego se observa con lupa en la zona entre la capa flogística y el plasma. En casos positivos se observan formaciones refringentes con gran movilidad (Figura 15B).

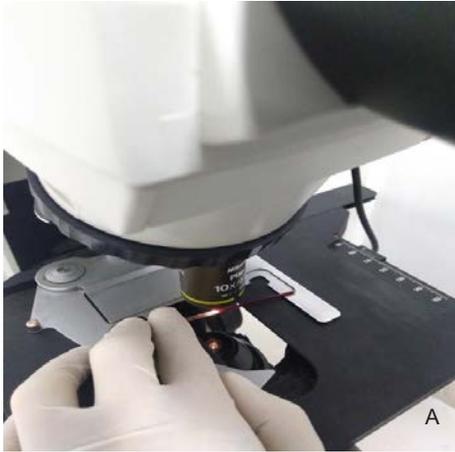


Foto 15. Observación de microfilarias. A) Visualización entre el plasma y el *buffy coat* donde debe realizarse la búsqueda. B) Formaciones refringentes.

4. Índices hematimétricos

Los índices hematimétricos o eritrocitarios, se calculan a partir de las determinaciones de VCC, hematocrito y recuento de glóbulos rojos, mediante las siguientes ecuaciones:

4.1. Volumen corpuscular o celular medio

Es el volumen medio de un glóbulo rojo (GR), aislado. Se expresa en micrómetros cúbicos.

$$\frac{\text{Hto}}{\text{Recuento de GR en millones}/\mu\text{l o mm}^3} \times 10 = \mu\text{m}^3$$

Valor normal en caninos: 60-77 μm^3 , felinos 39-55 μm^3 o fl.

4.2. Hemoglobina corpuscular o celular media (HCM)

Expresa el contenido medio de hemoglobina de un glóbulo rojo aislado. Su valor se expresa en picogramo (pg).

$$\frac{\text{Hb}}{\text{Recuento de GR en millones}/\mu\text{l o mm}^3} \times 10 = \text{pg}$$

Valor normal de referencia en caninos 19,5-24,5 pg, en felinos 12,5 -17,5 pg.

4.3. Concentración media de hemoglobina corpuscular o celular media (CMHbC)

Es el porcentaje de hemoglobina en 100 ml de glóbulos rojos (es decir, no el porcentaje de hemoglobina en 100 ml de sangre total).

$$\frac{\text{Concentración de Hb (mg/dl)}}{\text{VCC o Hto}} \times 100 = \%$$

Valor normal en caninos 32-36%, en felinos 30-36 %.

Dichos índices incorporan naturalmente errores de los métodos de los que se derivan, por lo que la CMHbC, que se obtienen de los dos métodos más exactos (Hto y concentración de Hb) es más exacta que cualquiera de los demás.

Cuando disminuye la concentración de la hemoglobina en un glóbulo rojo se dice que se trata de una anemia hipocrómica (ej. anemia ferropénica). Esto no debe confundirse con hipocromasia que indica diferencias en la intensidad de la tinción del frotis sanguíneo, aunque generalmente tiene la misma causa. La hipercromasia no existe como tal y se da cuando la morfología del glóbulo rojo es más pequeña de lo normal y de forma esférica, observándose en el frotis coloreado los eritrocitos intensamente teñidos (ej. anemias hemolíticas agudas).

Los incrementos en Hto y la HbCM, generalmente combinados con una CHbCM normal o disminuida, indican la presencia de macrocitos (hematíes macrocíticos), es decir glóbulos rojos de tamaño mayor que el normal (se da en las anemias producidas por falta de Vitamina B12 o ácido fólico). Una disminución en el Hto, HbCM y CHbCM indican la presencia de microcitos (hematíes microcíticos), glóbulos rojos que son más pequeños que lo normal (ej. anemia ferropénica). Un incremento en el hematocrito se debe casi siempre por deshidratación o hemoconcentración que da lugar a un aumento relativo del número de células. Es posible un aumento real del número de glóbulos rojos (policitemia), pero es extraordinariamente raro, como ya hemos comentado, en medicina veterinaria.

5. Leucocitos o glóbulos blancos: clasificación

5.1. Clasificación de los leucocitos o glóbulos blancos

Son células verdaderas, es decir, tienen citoplasma (con distintos organoides) y núcleo.

Hay 5 clases de leucocitos y se los puede clasificar de acuerdo a varios criterios:

1.-Según la presencia o no de granulaciones específicas en su citoplasma:

- Granulocitos: presentan gránulos específicos en el citoplasma
- Agranulocitos: no presentan gránulos específicos en el citoplasma

2.-Según las lobulaciones que presenta su núcleo:

- Polimorfonucleares: presentan un núcleo con dos o más lobulaciones.
- Mononucleares: presentan un núcleo sin lobulaciones.

Estas dos clasificaciones, comparten los tipos celulares, siendo los granulocitos polimorfonucleares y agranulocitos mononucleares.

· Granulocitos polimorfonucleares:

- o Neutrófilos
- o Eosinófilos
- o Basófilos

· Agranulocitos mononucleares:

- o Linfocitos
- o Monocitos

5.2. Recuento de glóbulos blancos

El recuento de los glóbulos blancos se realiza de manera similar al de los glóbulos rojos, por medio de la cámara de Neubauer o utilizando métodos automatizados (contadores celulares).

Método manual

El diluyente que se utiliza para realizar el conteo es ácido acético glacial al 3 % con una gota de azul de metileno cada 100 ml (solución de Türk). El ácido hemoliza los glóbulos y el azul de metileno tiñe los núcleos de los leucocitos para permitir su mejor visualización.

Se colocan en un tubo de hemólisis 0,38 ml de diluyente y 20 µl de la muestra de sangre con EDTA para la obtención de la dilución de 1/20. El conteo, se realiza en la cámara de Neubauer, siguiendo todos los pasos de su carga de igual manera que para los glóbulos rojos, pero realizando el conteo en los cuadrados de las cuatro esquinas del retículo de la cámara. Cada uno de estos cuadrados grandes (delimitado por triple línea) están divididos en 16 cuadrados más pequeños (líneas simples). La metodología de conteo es la misma que para los glóbulos rojos, contando todos los leucocitos que se encuentran en el centro del cuadrado y los que tocan los bordes izquierdo e inferior del mismo (Fig. 7).

Una vez realizado el conteo de los cuadrados grandes de las cuatro esquinas de la cámara, se realiza el cálculo:

$$\frac{n^{\circ} \times 20 \times 10}{4} = n^{\circ} \times 50$$

n°: Número de leucocitos contados

20: el título de la dilución realizada

10: para corregir la profundidad de la cámara y llevar a 1 mm³.

4: por ser el total de cuadrados contados.

El resultado final es el número de glóbulos blancos/ µl o mm³ de sangre.

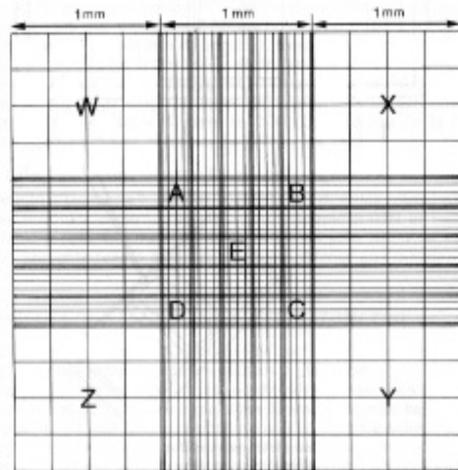


Figura 7. Reticulado de la cámara (W, X, Z, Y): 4 retículos para recuento de glóbulos blancos)

Cuando nos encontramos con la presencia de normoblastos (glóbulos rojos nucleados) en caso de anemias y son observados en un porcentaje superior al 5 % en el frotis (foto 48 y 49), se deberá corregir el recuento de glóbulos blancos con la siguiente fórmula:

$$\frac{n^{\circ} \text{ leucocitos} \times 100}{n^{\circ} \text{ de normoblastos} + 100} = \text{leucocitos corregidos}$$

Los neutrófilos y linfocitos son los tipos leucocitarios más numerosos en la sangre de los mamíferos domésticos sanos. Los perros y gatos tienen más neutrófilos en sangre que linfocitos. El número de neutrófilos y

linfocitos varían con la edad después del nacimiento. La proporción de neutrófilos/linfocitos tiende a ser más alta al nacimiento que en el animal adulto, en parte por la mayor concentración sanguínea de cortisol en los recién nacidos.

La cantidad de monocitos, eosinófilos y basófilos es baja en los mamíferos normales. En los caninos y felinos puede ser nula la presencia de basófilos.

Lo que se puede determinar con el recuento de leucocitos es el valor normal, un aumento en el número de leucocitos, leucocitosis o una disminución, leucopenia (Tabla 5).

Tabla 5. Valores de referencia de los leucocitos en pequeños animales.

ESPECIE ANIMAL	CANTIDAD/ μ l
Canino	6.000 - 18.000 (media: 11.000)
Felino	5.500 - 19.500 (media: 12.500)

5.3 Conceptos básicos sobre los leucocitos

Ciertos conceptos básicos sobre los leucocitos deben ser tenidos en cuenta para evitar errores en la interpretación de los cambios leucocitarios.

El hemograma aporta información sobre los elementos celulares (eritrocitos, leucocitos y plaquetas) que libremente circulan por la sangre. El leucograma representa el equilibrio que existe entre la producción de leucocitos de la médula, la demanda hacia los tejidos y la distribución de estas células en el sistema vascular. La médula ósea posee tres compartimentos:

a- Compartimento proliferativo o mitótico: es donde se encuentran las células precursoras, mieloblastos, promielocitos y mielocitos.

b- Compartimento de maduración: es donde se encuentran los neutrófilos jóvenes que carecen de capacidad mitótica (metamielocitos y neutrófilos en banda).

c- Compartimento de almacenamiento: es donde se encuentran la reserva de neutrófilos segmentados para las demandas de los tejidos.

Los glóbulos blancos informados por el hemograma son los extraídos del pool circulante, el pool marginal es una población de neutrófilos que se marginan a lo largo de los revestimientos vasculares de los capilares del pulmón y otros sitios.

Esto es importante en la interpretación de los cambios en el recuento leucocitario total y en la fórmula leucocitaria relativa, porque ciertos mediadores corporales (adrenalina, glucocorticoides endógenos, endotoxinas y productos de la anafilaxis) causan desvíos rápidos en la distribución de las células dentro del sistema vascular y alteran los resultados del leucograma (Fig.8).

Los leucocitos persisten en la circulación por períodos cortos de tiempo, ya que abandonan el torrente circulatorio para responder a estímulos quimiotácticos y dirigirse a los diferentes tejidos donde realizan su acción.

Luego de la liberación desde la médula ósea, los neutrófilos permanecen en sangre unas pocas horas antes de ir a los tejidos. Los neutrófilos que permanecen en sangre sufren apoptosis y son eliminados por ma-

crófaeos. Los neutrófilos en sangre integran los compartimientos circulante (CNC) y marginal (CNM). Ambos compartimientos tienen aproximadamente el 50 % de células cada uno, o un poco menos en el circulante. Los neutrófilos circulantes son los que se evalúan en las muestras de sangre y los neutrófilos marginales, se retienen en los capilares, principalmente los pulmonares. Es así que el recuento absoluto de neutrófilos puede afectarse por los movimientos de células entre el compartimiento marginal y circulante.

Los eosinófilos, basófilos y monocitos también permanecen en sangre durante períodos cortos de tiempo y pasan a los tejidos. Con la excepción de algunas poblaciones de linfocitos, los leucocitos no entran nuevamente a la circulación luego de migrar a los tejidos.

Es por todo lo mencionado que debemos considerar los siguientes cambios en el aumento de los leucocitos con predominio de neutrófilos:

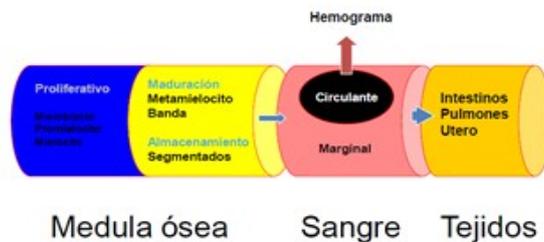


Figura 8. Distribución de los neutrófilos en el organismo.

a-Leucocitosis con neutrofilia fisiológica (pseudoneutrofilia):

Esta manifestación se da en presencia de miedo, excitación o ejercicio excesivo (incluido el forcejeo durante la sujeción para una extracción de sangre) asociado a la liberación de epinefrina que causa un aumento del adenosin monofosfato cíclico (AMPC) de las células endoteliales, el cual disminuye la adherencia de los neutrófilos a las paredes de los vasos. Existe un desplazamiento transitorio de neutrófilos maduros o segmentados desde el conjunto o pool marginal hacia el circulante. Se denomina pseudoneutrofilia ya que no se produce un verdadero incremento de neutrófilos desde la médula ósea hacia sangre periférica, sino que los neutrófilos que estaban marginados pasan a incrementar el pool circulante. Debido a que el felino tiene una mayor cantidad de neutrófilos en el pool marginal que en el circulante, el incremento es más notorio que en el canino. Es un proceso de rápida aparición y de corta duración. Si se deja en reposo al animal, en 20 minutos los valores se normalizan. En el frotis se observará neutrofilia madura, linfocitosis, y ocasionalmente monocitosis y eosinofilia.

b-Neutrofilia inducida por esteroides:

La neutrofilia ocurre por la producción endógena o exógena incrementada de esteroides (ej. estrés; síndrome de Cushing, terapia con corticoides muy prolongada). Los corticoides incrementan la velocidad de liberación medular de neutrófilos maduros o segmentados del compartimiento medular de almacenamiento en 3 a 7,5 veces, lo cual es la razón para la expansión del conjunto total de neutrófilos en sangre. Un efecto secundario abarca la menor adherencia celular con un desplazamiento del conjunto marginal hacia el circulante y una ligera

prolongación de la vida media de los neutrófilos circulantes. Los cambios típicos en el leucograma, comprenden leucocitosis con neutrofilia, monocitosis, linfopenia y eosinopenia.

c-Neutrofilia promovida por inflamación y/o infección:

Los procesos inflamatorios y/o infecciosos, especialmente los de origen bacteriano cursan con leucocitosis y neutrofilia. La magnitud de la misma es un reflejo de la intensidad del proceso nosológico y está determinada por el balance entre la tasa de liberación desde la médula y la demanda tisular. Cuando el proceso (generalmente purulento) es muy intenso y no puede ser controlado y la demanda de neutrófilos supera la producción medular de neutrófilos segmentados, la médula ósea comienza a liberar a sangre periférica células más inmaduras del compartimiento de maduración. Cuando esto ocurre y comienzan a aparecer estas células más inmaduras que el neutrófilo segmentado en sangre periférica, se define como leucocitosis con neutrofilia y desvío a la izquierda

La leucocitosis con neutrofilia y desvío a la izquierda es muy marcada en las infecciones producidas por bacterias piógenas como los estreptococos y estafilococos (ej. septicemia, peritonitis, piómetra).

6. Frotis sanguíneo

Para realizar un frotis sanguíneo debemos homogeneizar previamente la muestra de sangre más el anticoagulante y tomar con micropipeta o con un microcapilar la muestra y colocar una gota de sangre sobre un portaobjetos bien limpio y seco (los portaobjetos deben guardarse en un frasco bien cerrado que contenga alcohol). Una vez realizada esta maniobra, con un extensor (portaobjetos con los extremos limados), el cual se coloca en ángulo de 45° por delante de la gota, se lo hace retroceder hasta tocar la gota, esta se extiende en el extremo del mismo y luego se ejerce una presión suave pero firme hacia adelante y arriba. Quedando el frotis compuesto por una cabeza, un cuerpo y una cola (Foto 16).

Se deja secar al aire libre y luego se realiza la coloración previa inscripción del número de muestra a procesar en la cabeza del frotis (sería la que está más cerca de la gota inicial que hemos colocado para hacer el frotis) con un lápiz. De esta manera una vez terminada la coloración no se borrará y no llevará a confusiones.

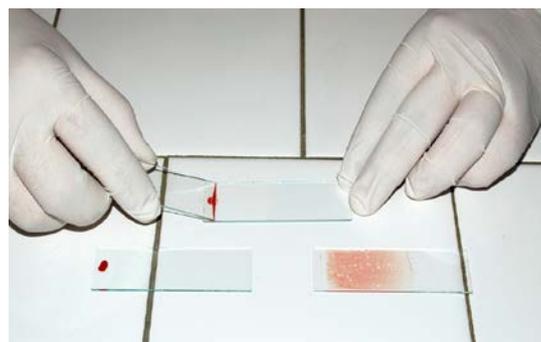


Foto 16. Maniobra para realizar un frotis sanguíneo.

6.1. Coloración de May Grünwald Giemsa

1. Se coloca el frotis sobre un soporte compuesto por dos varillas de vidrio sobre un contenedor de líquidos y se le agrega al mismo cubriendo el portaobjetos el colorante de May Grünwald (Merk®) y se deja por 5 min.
2. Luego se le agrega solución *buffer* con un pH 7,5 sin lavar el anterior colorante y se lo deja 5 min más.
3. Se lava con agua de la canilla.
4. Se le agrega por último el colorante Giemsa, pero diluido (por cada ml de *buffer* 2 gotas de Giemsa). Se estima que cada frotis para ser cubierto totalmente lleva 3 ml, entonces se preparan 3 ml de Buffer + 6 gotas de

Giemsa. Esto se extrapola según la cantidad de frotis a colorear. Esta dilución debe prepararse en el día previo filtrado del colorante, ya que si se deja más de 24 h preparada sedimenta y veremos un puntillado en el frotis que impedirá realizar una observación correcta del mismo.

Este colorante debe dejarse entre 15 a 20 min.

5. Por último se lava y se deja secar a temperatura ambiente y en forma inclinada así se escurre mejor.

6. Una vez que hemos hecho la coloración y dejado secar el frotis, se lleva al microscopio y se observa con una gota de aceite de inmersión y con el objetivo de 100X.

Otras coloraciones utilizadas

Metanol-Giemsa

1. Se coloca el frotis sobre un soporte compuesto por dos varillas de vidrio sobre un contenedor de líquidos.

2. Se fija la muestra cubriendo el frotis con metanol (alcohol metílico) durante 3 a 5 minutos.

3. Se lava con agua de la canilla.

4. Se cubre con Giemsa (preparando el colorante como se indicó en la coloración clásica) durante 15 a 20 minutos.

4. Se lava con agua corriente y deja secar al aire.

Diff-Quik (Tinción 15)

Es una coloración comercial rápida, por inmersión. Se obtienen resultados similares a la tinción de May Grünwald-Giemsa, siempre y cuando el tiempo de tinción se prolongue hasta 1 minuto.

Son tres soluciones separadas: la primera es el fijador.

Se sumergen los portaobjetos con las muestras en cada frasco durante 1 minuto.

Tener la precaución de escurrir el exceso de fijador y colorantes con papel de filtro antes de sumergirla en el frasco siguiente. De esta manera se logra optimizar el resultado.

Renovar los colorantes con frecuencia, según la cantidad de coloraciones que se realicen para no disminuir la calidad del diagnóstico. Podría haber alguna falla en la captación del colorante por las células o presencia de precipitados del mismo que confundan al observador.

6.2.Observación del frotis

En el frotis sanguíneo se realiza la observación de la morfología de los eritrocitos, plaquetas, leucocitos y el recuento diferencial de los leucocitos. Es decir, la fórmula leucocitaria relativa identificando 100 células de acuerdo a las características particulares de cada una. Además se anotan las alternaciones de tamaño, forma y color de los glóbulos rojos, presencia de microorganismos sanguíneos y distribución de plaquetas. Ha sido un problema la elección de las zonas convenientes de la extensión en las que se cuentan los leucocitos, puesto que se sabe que la distribución no es uniforme en toda la extensión. Se encuentra mayor cantidad de leucocitos en los bordes y en la cola de la extensión que en el centro y, en esos lugares, hay un porcentaje más elevado de neutrófilos y monocitos (es decir las células de mayor tamaño), que en el resto de la extensión. Es por ello que se realiza la lectura en guarda griega a partir de la cola de la extensión para evitar esto y además porque aquí los glóbulos rojos están más separados y podemos observar mejor las diferencias

nucleares y citoplasmáticas de los leucocitos. Luego podemos extendernos hasta el cuerpo del preparado hasta finalizar el conteo de 100 células.

6.3. Interpretación

La evaluación de la morfología de los eritrocitos es un paso crítico en los frotis de sangre y puede colaborar con la identificación de diferentes desórdenes metabólicos, indicar daños oxidativos o ayudar a localizar una enfermedad en proceso. Se pueden mencionar 6 aspectos a ser evaluados: color, tamaño, forma, orientación, inclusiones y presencia de microorganismos.

1) Cambios de color del eritrocito:

a) Afectan al total de la población

* Hiper Cromía: Cuando se presentan los eritrocitos en forma de esferocitos y pierden la palidez central, aparentan estar más intensamente teñidos (Foto 17).

* Hipocromía: Cuando los eritrocitos se presentan débilmente teñidos, por lo general ante una disminución en la concentración de hemoglobina (Foto 18).

b) Afectan a una parte de la población

* Policromasia: Cuando los eritrocitos se observan con variaciones de color por su contenido en hemoglobina y su grado de maduración (serían los reticulocitos que se ven mejor con tinciones supravitales) (Foto 19).

2) Alteraciones en el tamaño del eritrocito (anisocitosis).

a) Macroцитos: hematíes más grandes que lo normal (común en anemias regenerativas) (Foto 20).

b) Microцитos: hematíes más pequeños que lo normal (Foto 20).

* Microцитos hipocrómicos: Cuando los glóbulos rojos se presentan en un tamaño menor al normal con menor cantidad de hemoglobina.

* Microцитos hiperocrómicos: eritrocitos que pierden la palidez central, a dichas células se las llama esfe-

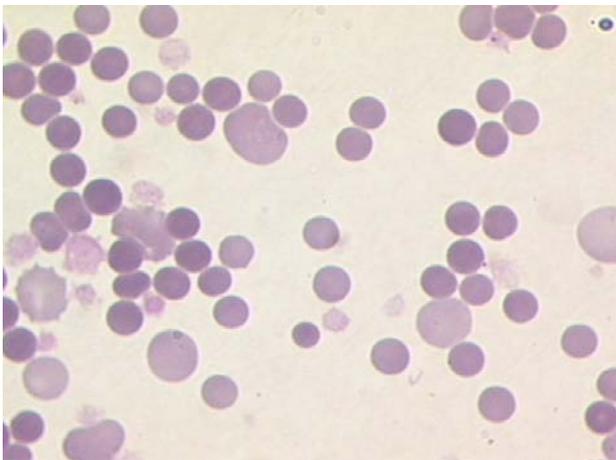


Foto 17 Esferocitos (eritrocitos pequeños que carecen de palidez central, hiperocrómicos, característicos en las anemias hemolíticas)* (100x)

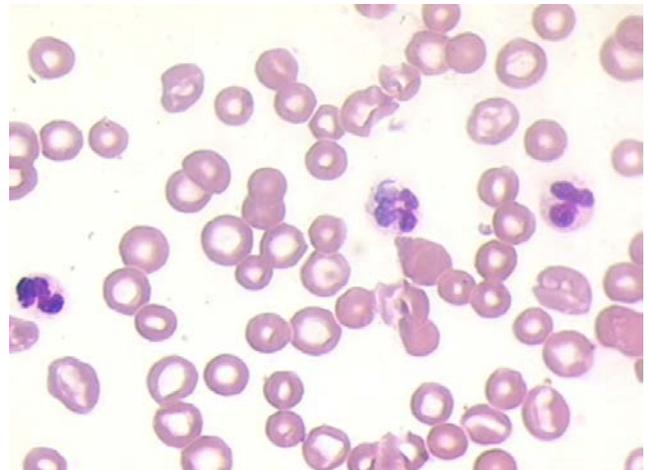


Foto 18 Eritrocitos hipocrómicos (eritrocitos débilmente teñidos por su escaso contenido en hemoglobina, característicos en las anemias ferropénicas)* (100x)

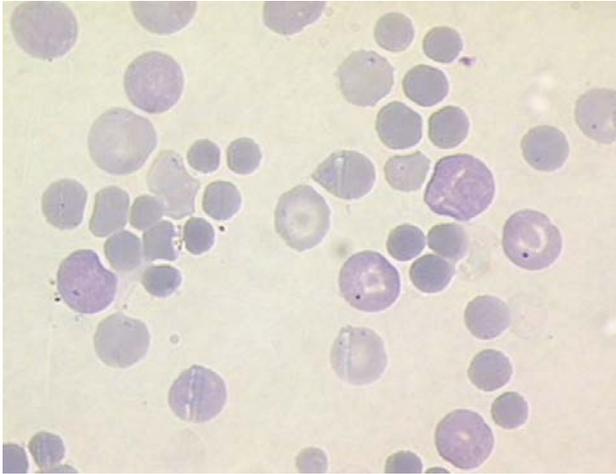


Foto 19. Policromasia: eritrocitos de diferente tamaño de acuerdo a su grado de madurez con distinta afinidad tintorial por su contenido en hemoglobina (inmaduros: grandes y basófilos y maduros tamaño normal y acidófilos) característica en las anemias regenerativas.

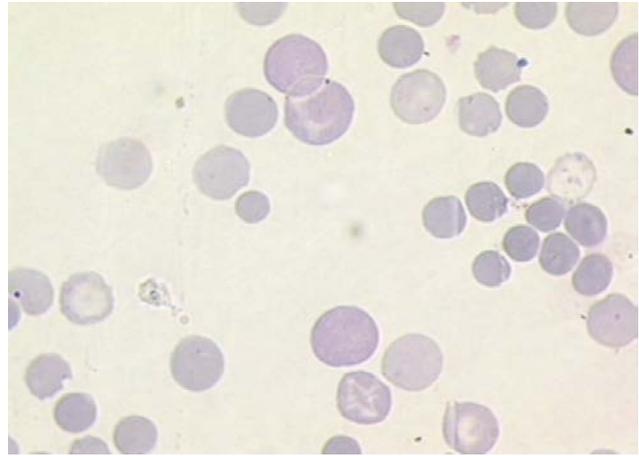


Foto 20. Macroцитos y microцитos: eritrocitos más grandes y más pequeños que el tamaño normal, característicos en las anemias regenerativas.*

rocitos, es decir células más pequeñas de lo normal con el mismo contenido de hemoglobina que un glóbulo rojo normal. Se forman por la fagocitosis parcial de los eritrocitos, posteriormente son eliminados de circulación sanguínea por el SRE del bazo.

3) Alteraciones en la forma de los eritrocitos (poiquilocitosis).

Estas alteraciones son consideradas patológicas cuando superan el 20 %. Es normal de ver en terneros jóvenes sanos, cabras y cerdos.

a) Equinocitos o crenocitos (Foto 21): presentan proyecciones citoplasmáticas uniformes y regularmente separadas. Por lo usual son artificios resultantes de un exceso de EDTA o almacenamiento prolongado de la muestra antes de realizar el frotis. También se han detectado en casos de uremia, toxicidad por doxorubicina y glomerulonefritis.

b) Acantocitos (Foto 22): presentan espículas irregulares y más marcadas que en los crenocitos. Se puede presentar en enfermedades hepáticas, glomerulonefritis, hemangiosarcoma, coagulación intravascular diseminada.

c) Leptocitos: son glóbulos rojos que tienen una relación membrana/volumen celular aumentada (Foto 23).

d) Estomatocitos: se observan hundidos centralmente, dando la apariencia de un estoma (boca) (Foto 24).

e) Cnizocitos: Son glóbulos rojos que presentan una deformación de su membrana, por lo que se observan deprimidos en dos partes (Foto 25).

f) Esquistocitos; Son fragmentos de eritrocitos. Se pueden ver en coagulación intravascular diseminada, falla cardíaca congestiva, hemangio-sarcoma (Foto 26).

g) Dacriocitos: Son glóbulos rojos que tienen forma piriforme, que aparecen como consecuencia de la deformación que sufre un eritrocito al pasar por un vaso sanguíneo, quizás se deba a una alteración en el citoesqueleto; se ve en mielofibrosis, desórdenes mieloproliferativos e hipersplenismo.

h) Ovalocitos o Eliptocitos: son eritrocitos con forma oval o elíptica.

i) Células en diana (*target cell*): son células que presentan la hemoglobina bien pegada a la membrana y otro resto de hemoglobina en el centro.

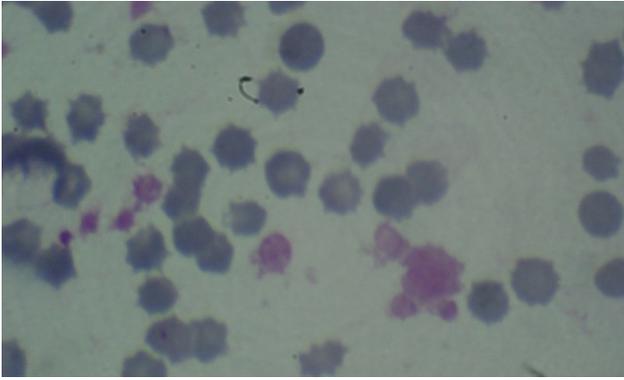


Foto 21. Crenocitos: eritrocitos con la membrana externa formando más de 20 prolongaciones por defectos en la realización del frotis o que la muestra tenga más de 24 horas de extraída.

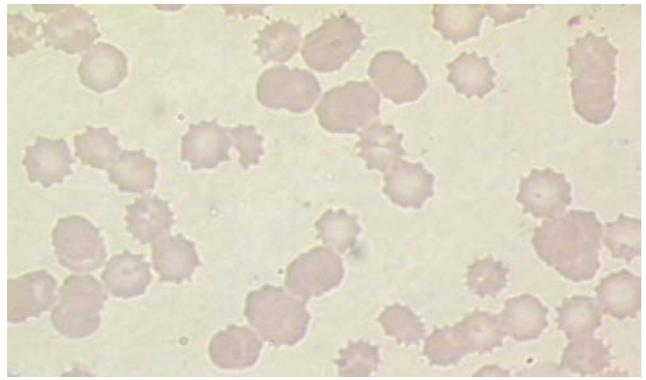


Foto 22. Acanthocitos: eritrocitos con la membrana externa formando menos de 20 prolongaciones por trastornos del ATP de membrana, característicos en las Anemias arregenerativas de origen extramedular.



Foto 23. Leptocitos: eritrocitos delgados que presentan, el borde de la célula teñido levemente de rosado al igual que su centro, por un acúmulo de hemoglobina, denominadas también célula en diana, target cell o célula en blanco de tiro.

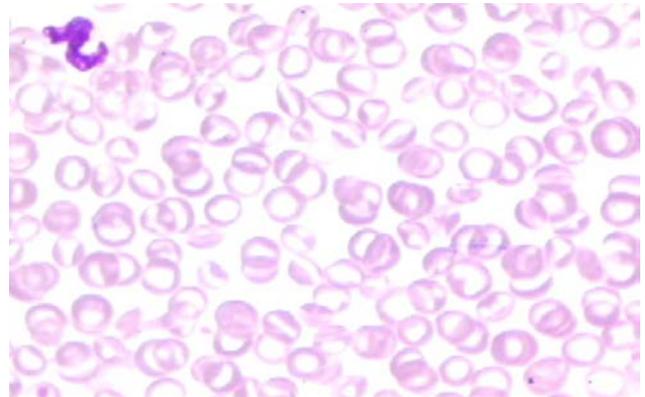


Foto 24. Estomatocitos eritrocitos que presentan alteraciones en su membrana externa y se observan hundidos centralmente dando la apariencia de un estoma (boca). Presentes en anemias arregenerativas de origen extramedular.

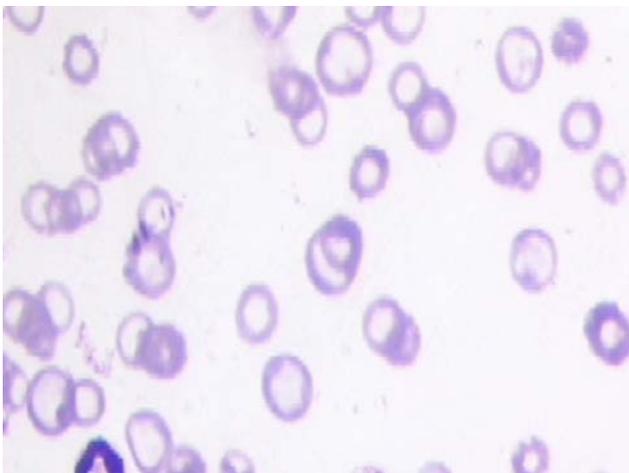


Foto 25. Chrizocitos eritrocitos con alteraciones en su membrana externa que presentan depresiones en dos partes. Presentes en anemias arregenerativas de origen extramedular.

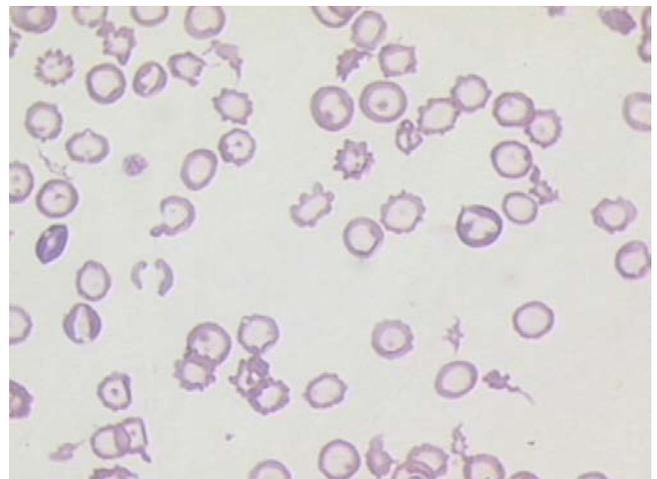


Foto 26 Esquistocitos o fragmentocitos. Fragmentos de eritrocitos característicos en anemias arregenerativas por fracaso medular.

4) Cambios en la orientación de los eritrocitos

a) Formas en pila de moneda (Rouleaux): los glóbulos rojos tienden a formar cadenas; se presentan normalmente en los frotis de la especie equina y felina.

b) Aglutinación: Se denomina así cuando los eritrocitos se agrupan en forma de roseta o racimo por una reacción de aglutinación (antígeno-anticuerpo) (Foto 27).

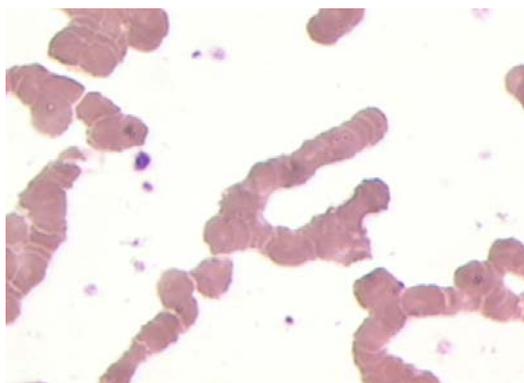


Foto 27 Eritrocitos con cambios de orientación: aglutinación eritrocitaria.

5) Inclusiones en los eritrocitos

a) Corpúsculos de Howell-Jolly: son residuos de ADN del núcleo, en un bajo porcentaje se ve en sangre normal de equinos y felinos. Puede verse después de una esplenectomía o en asociación con anemias regenerativas (Foto 28).

b) Cuerpos de Heinz: son gránulos redondos u ovales, de hemoglobina desnaturalizada y precipitada a causa de la oxidación, a menudo están adheridos a la parte interna de la membrana. Se observan con colorantes supravitales como nuevo azul de metileno. En contraste con otras especies los felinos normales pueden presentar un 5-10 % de cuerpos de Heinz dentro de sus eritrocitos debido a que la hemoglobina es más susceptible a la acción de oxidantes endógenos y a que el bazo es menos eficiente en la remoción de los cuerpos de Heinz eritrocitarios (Foto 29).

c) Cuerpos de inclusión del moquillo: son cuerpos redondos que se ven de color magenta. También puede observarse en leucocitos. Aparecen de manera transitoria.

d) Puntillado basófilo: Se presenta como un puntillado azul-violáceo (Foto 30), como resultado de la agregación espontánea de ribosomas y otras organelas que ocurre durante la maduración de los eritrocitos. Se observa con frecuencia en anemias regenerativas en rumiantes. En el perro es frecuente en intoxicación con plomo (Foto 31).

6) Microorganismos sanguíneos

a) Eritrocitarios:

* *Mycoplasma haemocanis*, *M. felis*. Los microorganismos se presentan como cocos o bacilos aislados en forma de cadenas cortas sobre la periferia de los glóbulos rojos. Debe tenerse cuidado de no confundirlos con corpúsculos de Howell Jolly ya que *M. haemofelis* es más pequeño (menor a 1 μm). Con menor frecuencia se puede observar en caninos *M. haemocanis* (Foto 32).

* *Babesia canis*. Se presenta como uno, dos o cuatro merozoítos en forma de pera de 2-4 μm de diámetro

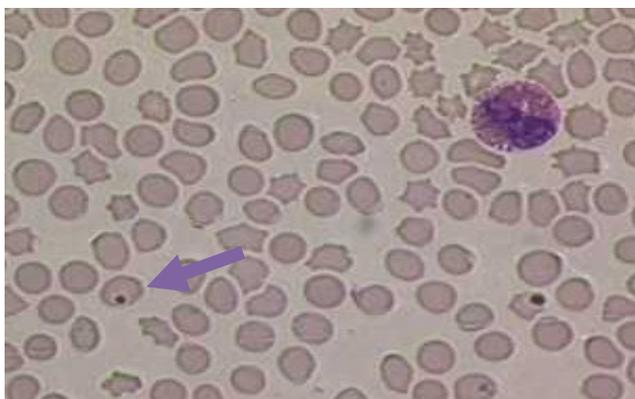


Foto 28. Corpúsculos de Howell Jolly: corpúsculo basófilo en el interior del eritrocito mayor a 1 μm representa restos de ADN, característico de las Anemias regenerativas.*

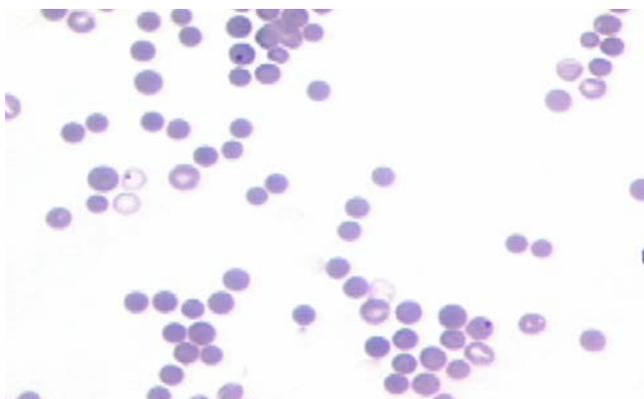


Foto 29. Cuerpos de Heinz eritrocitos: con gránulos redondos u ovals de hemoglobina desnaturalizada que hacen protrusión sobre la membrana celular.
Frotis sanguíneo felino teñido con Azul Brillante de Cresil (Objetivo 100x).

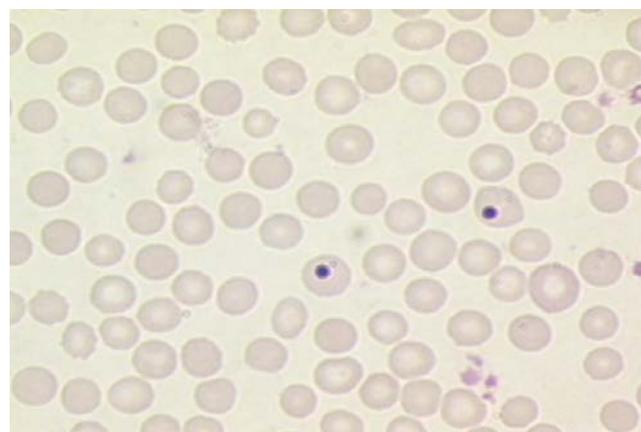


Foto 30. Cuerpo de inclusión del moquillo: inclusiones redondeadas dentro del eritrocito con un tamaño de 2-3 μm color rosado.*

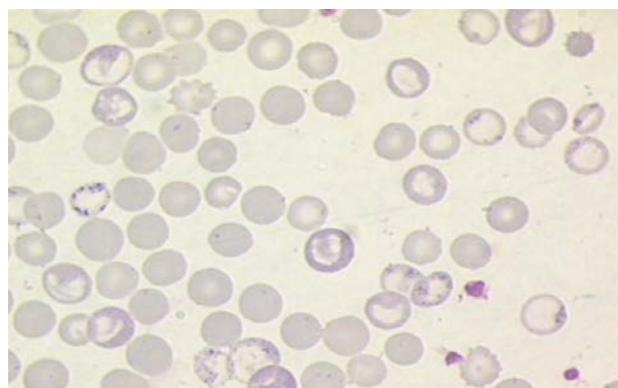


Foto 31. Puntillado basófilo: eritrocitos que presentan puntos múltiples azules en su interior, característicos en Anemias por intoxicación con plomo.*

con contornos oscuros y sin tefir en su interior dentro de los glóbulos rojos de caninos y felinos (Foto 33).

* *Cytauxzoon felis* son parásitos ovals de 1 a 5 μm de diámetro. Se tiñen de color azul con una región central clara. Frecuentemente presentan el núcleo de color púrpura localizado en un extremo dando una apariencia de anillo de sello. Se encuentra en el interior de los eritrocitos felinos. No hay información a la fecha de su presencia en Argentina.

b) Leucocitarios:

* *Hepatozoon canis*: es un parásito que afecta a los glóbulos blancos y específicamente a los neutrófilos y monocitos. Se presenta como gamontes dentro de estas células (forma de habano) (Foto 34).

* *Ehrlichia* spp: es una bacteria pleomórfica cocoide gramnegativa, intracelular obligada, que se presenta en grupos de microorganismos llamados mórula en neutrófilos (*E. ewingii*) y en monocitos (*E. canis*).

c) Extraeritrocitarios:

* *Trypanosoma* spp.: son parásitos alargados de 20 a 40 μm en total que presentan una cola en forma de látigo y un núcleo sencillo. Se observan en los frotis de caninos entre los eritrocitos (Foto 35).

* *Dirofilaria immitis* (microfilarias). Este parásito se observa a través de diferentes técnicas: gota gruesa,

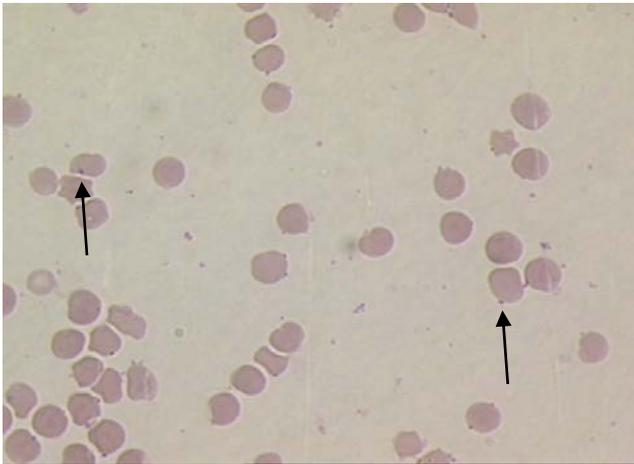


Foto 32. *Mycoplasma* hemotrófico: son formas coco-bacilares basofílicas sobre la superficie de los eritrocitos que provocan Anemia hemolítica en felinos*.

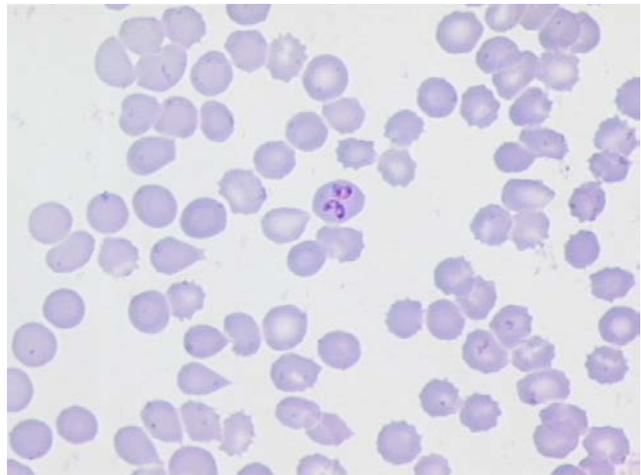


Foto 33 *Babesia* spp.*

* Frotis sanguíneo canino teñido con May Grünwald – Giemsa

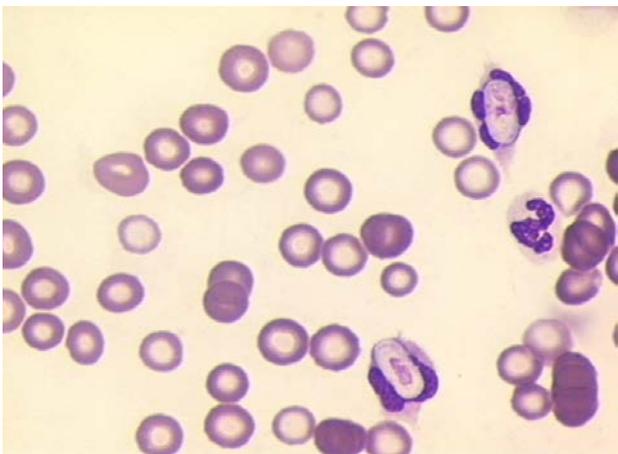


Foto 34 *Hepatozoon canis**

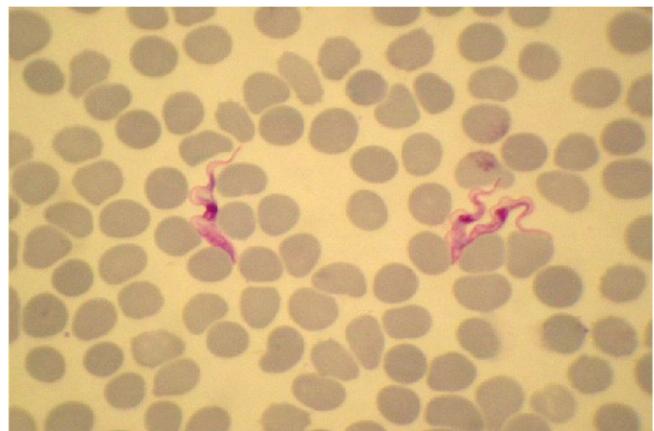


Foto 35. *Trypanosoma* spp*

para esto se coloca una gota de sangre sobre un portaobjetos, se cubre y se observa con el objetivo 40X. Se puede identificar a la *Dirofilaria immitis* moviéndose entre los eritrocitos.

Técnica microcapilar: mencionada en páginas previas.

Test de Knott modificado. Esta técnica consiste en colocar en un tubo de centrifuga 1 ml de sangre y agregar 9 ml de solución formolada al 2 %, Se homogeneiza y se centrifuga durante 10 min a 3000 rpm, se tira el sobrenadante y al sedimento se le agrega una o dos gotas de azul de metileno al 2 %. En agregado de este colorante teñirá a la *Dirofilaria* de un color azul pálido. Se toma una gota de este sedimento, se coloca sobre un portaobjeto se cubre y se observa con objetivo 40X (Foto 36).

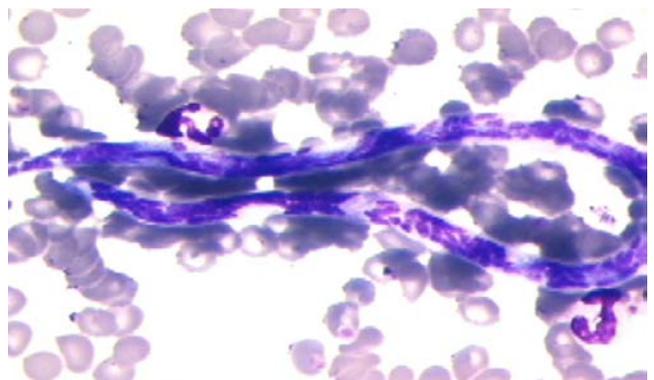


Foto 36. *Dirofilaria immitis* entre los eritrocitos.*

b. Morfología de los glóbulos blancos:

1-Neutrófilos

Existen dos formas de neutrófilos:

a) Neutrófilos segmentados (maduros), es decir con un núcleo que presenta 2 o más lóbulos.

b) Neutrófilos inmaduros o sin lobulaciones (conocidos también como formas en banda o en cayado), es decir, en los que el núcleo no está dividido en dos o más lóbulos. Se anotan por separado de los demás neutrófilos ya que un incremento en su número (nos indica un rápido incremento en la producción de neutrófilos) es característico de muchas enfermedades.

Morfología normal

El citoplasma de los neutrófilos es claro a gris tenue o puede tener una granulación rosa difusa pero indefinida.

Los neutrófilos constituyen aproximadamente entre un 60-70 % del total de los glóbulos blancos. Son células de forma redondeada, con un diámetro aproximado entre 10 y 15 μm .

En los frotis se reconocen fácilmente por su núcleo característico, con 3 a 4 lóbulos unidos por finos puentes de cromatina (Foto 37). También se pueden encontrar formas inmaduras en bajo porcentaje, que son denominados neutrófilos en banda, en cayado o no segmentados (Foto 38).

A medida que envejecen, el núcleo presentará mayor cantidad de lobulaciones (5 a 6) y los neutrófilos se denominan neutrófilos hipersegmentados. La vida media normal de estas células es de aproximadamente 8 a 10 días (Foto 39 a y b).

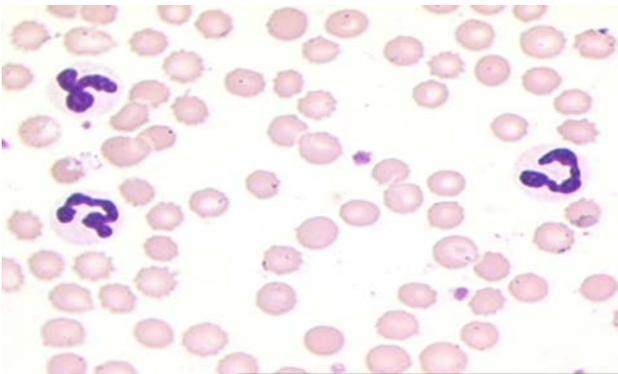


Foto 37. Neutrófilos segmentados. Se observan dos hacia la izquierda y 1 hacia la derecha*.

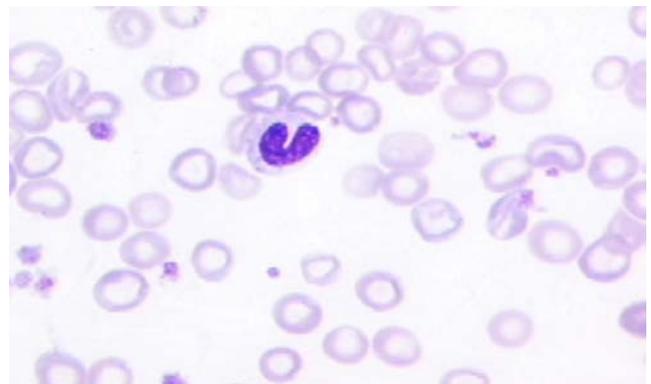


Foto 38. Neutrófilo en banda o en cayado*.

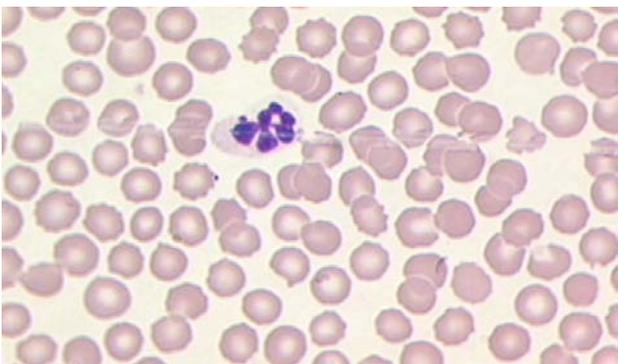


Foto 39a. Neutrófilo hipersegmentado (con más de cinco lobulaciones: se denomina desvío hacia la derecha) en canino*.



Foto 39b. Neutrófilo hipersegmentado (con más de cinco lobulaciones: se denomina desvío hacia la derecha) en felino.

La cromatina nuclear aparece fuertemente teñida, no se observa nucléolo.

En los neutrófilos de la sangre de los animales de sexo hembra, la cromatina que representa al cromosoma X condensado, forma un diminuto lóbulo independiente, que aparece como un pequeño apéndice en uno de los lóbulos nucleares (palillo de tambor o corpúsculo de Barr).

El citoplasma de los neutrófilos es muy pálido, posee escasas organelas (mitocondrias, Golgi y retículo endoplásmico) y abundantes granulaciones específicas finas (de 0,3 a 0,8 μm de diámetro), las cuales se tiñen muy poco. Además, presenta otras granulaciones, que se tiñen con el Azur y reciben el nombre de gránulos azurófilos (color púrpura).

Están descritos tres tipos de gránulos en los neutrófilos maduros:

- * Primarios: azurófilos o mieloperoxidasa-positivo.
- * Secundarios (específicos).
- * Terciarios (lisosomas).

Los gránulos específicos contienen fosfatasa alcalina, una proteína básica (fagocitina) y lisozimas, con actividad antibacteriana.

Los gránulos azurófilos, en cambio, contienen mieloperoxidasa, peroxidasa, glucuronidasa y fosfatasa ácida, además de algunas enzimas hidrolíticas (se los puede considerar como lisosomas primarios).

Los gránulos se forman secuencialmente durante la maduración del neutrófilo. Los gránulos primarios durante el estadio de promielocito, los gránulos secundarios durante los estadios de mielocito y metamielocito (Foto 40 y 41) y los gránulos terciarios y vesículas secretorias se forman durante los estadios de neutrófilo en banda y segmentado.

Morfología anormal

Las modificaciones citoplasmáticas observadas en la morfología de los neutrófilos e inducidas por la enfermedad se denominan “cambios tóxicos”. Estos cambios por lo general se asocian con infecciones sustanciales locales o sistémicas, pero también se observan en la inflamación estéril y toxicidad medicamentosa.

Se reconocen dos causas básicas de los cambios tóxicos vistos en las células:

a) Defectos madurativos: son el resultado de una granulopoyesis aberrante e indican un efecto inflamatorio / infeccioso sistémico sobre la médula ósea.

* Basofilia citoplasmática: es una forma grave de cambio tóxico, que aparece como un citoplasma azul o azul púrpura moteado pálido y homogéneo, en las células afectadas, tanto en neutrófilos en banda como en



Foto 40. Metamielocito (Neutrófilo inmaduro) presente en una leucocitosis neutrofílica con desvío a la izquierda.*

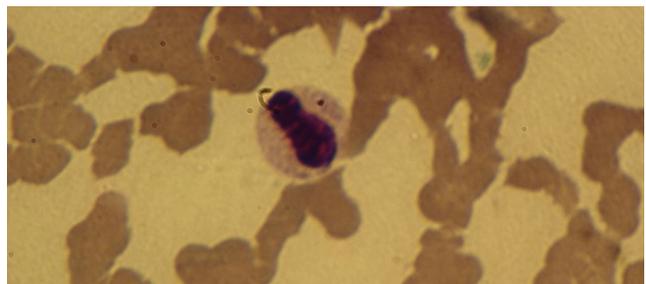


Foto 41. Metamielocito (Neutrófilo inmaduro) presente en una leucocitosis neutrofílica con desvío a la izquierda en felino-

los segmentados.

* Granulaciones tóxicas: se presentan como granulaciones citoplasmáticas dispersas, de color rosa-rojo y representan los gránulos fundamentalmente de los polisacáridos retenidos, que normalmente se pierden durante la maduración de los neutrófilos. Estas granulaciones aparecen en casos de una granulopoyesis aberrante.

* Células gigantes: los neutrófilos gigantes representan divisiones mitóticas de células precursoras de neutrófilos en desarrollo rápido, son semejantes en apariencia a los neutrófilos en banda o maduros, aunque tienen dos veces el tamaño de ellos y se observan en pacientes con neutropoyesis tóxica, con más frecuencia en felinos que en caninos.

* Cuerpos de Döhle: son la forma más benigna de cambios tóxicos en los neutrófilos, son inclusiones citoplasmáticas angulares azuladas por agregaciones de retículo endoplásmico localizado en periferia del citoplasma (Foto 42).

* Núcleos en anillo o dona: la presencia de núcleos en forma de anillos o dona en los neutrófilos revelan toxicidad sistémica extrema y se asocia con sepsis.

b) Efectos tóxicos: se ven fundamentalmente en animales con sepsis, endotoxemia o necrosis tisular.

* Vacuolización espumosa del citoplasma: es un indicador de una toxicidad sistémica grave y aparece como resultado de la formación anormal de lisosomas y la liberación intracelular de las enzimas autolíticas. Este cambio tóxico aparece con la presencia de muchas vacuolas, en el citoplasma dando la apariencia de burbujas.

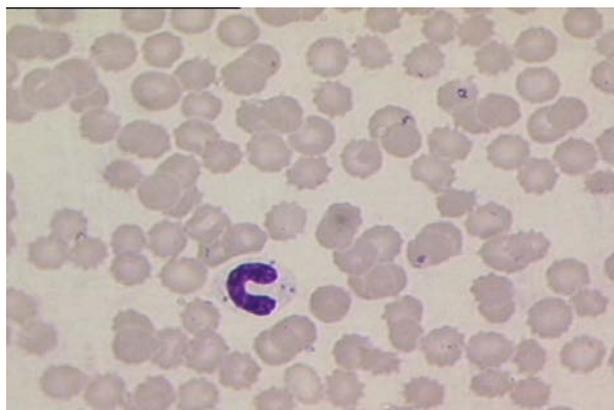


Foto 42. Cuerpos de Döhle (Neutrófilo tóxico)*
(objetivo 100x)

Otras alteraciones

* Inclusiones intracitoplasmáticas; en enfermedades infecciosas específicas, en algunos pacientes pueden detectarse en el interior del citoplasma cuerpos de inclusión virales o bacterianos, como por ejemplo: moquillo.

* Presencia de microorganismos: hepatozoonosis y ehrlichiosis.

* Hipersegmentación de los neutrófilos: el núcleo de la célula posee cinco o más lobulaciones. Esto indica un período de tránsito prolongado en circulación. Pueden observarse por ejemplo en la enfermedad inflamatoria crónica.

Función de los neutrófilos:

La función de los neutrófilos es constituir la primera barrera de defensa celular contra la invasión de bacterias, hongos, protozoos y algunos virus. Esta función, la cumplen fuera del torrente circulatorio, en el sitio donde se produce una inflamación. Los neutrófilos son fagocitos que tienen la capacidad de extender pseudópodos alrededor de las bacterias, englobándolas y destruyéndolas gracias a sus enzimas hidrolíticas presentes en los gránulos. La presencia de pseudópodos incrementa la superficie del neutrófilo y esto es crucial para realizar la función de fagocitosis.

Los neutrófilos circulan en sangre ya sea formando el pool marginal o circulante durante unas pocas horas.

En los animales sanos los neutrófilos abandonan el torrente circulatorio y migran principalmente a intestino, pulmones y piel. Este proceso es esencial para prevenir las infecciones bacterianas.

Los neutrófilos también son reclutados desde el torrente circulatorio hacia los sitios de infección y fagocitan los microorganismos. El proceso de fagocitosis involucra los mecanismos de: adherencia, quimiotaxis, fagocitosis y destrucción del organismo.

Aumento del número de neutrófilos: Neutrofilia

En caso de procesos inflamatorios infecciosos en especial los purulentos, existe una leucocitosis importante con neutrofilia y desvío a la izquierda. Una vez que se definió este desvío, el mismo puede clasificarse en regenerativo o degenerativo.

a) Desvío a la izquierda regenerativo: cuando la cantidad de células mieloides maduras (neutrófilos segmentados) es superior a la suma de todas las células mieloides inmaduras (neutrófilos en banda, metamielocitos neutrofilícos, mielocitos neutrofilícos, promielocitos y/o mieloblastos). En general este tipo de desvío cursa con neutrofilia, aunque en algunos casos el recuento de neutrófilos puede ser normal.

b) Desvío a la izquierda degenerativo: se caracteriza por la presencia de neutrófilos segmentados en sangre periférica en menor cantidad que la suma de todas las formas inmaduras mieloides. Este desvío puede ir acompañado de neutrofilia, recuento normal de neutrófilos o de neutropenia. El pronóstico será más grave cuando esté acompañado de neutropenia ya que estará indicando o bien agotamiento de la médula ósea por la intensidad y severidad del proceso o inhibición medular por acción de toxinas bacterianas que impiden la respuesta medular de modo que ya no puede compensar la falta de neutrófilos segmentados ni con formas inmaduras. Los desvíos a la izquierda degenerativos implican una enfermedad supurativa seria y un pronóstico reservado.

Disminución del número de neutrófilos: Neutropenia

Se considera neutropenia cuando el número de neutrófilos segmentados en sangre, es inferior a 3.000 y 2.500/ μ l en caninos y felinos respectivamente. Como los neutrófilos son el tipo de leucocito que predomina en la circulación de estas especies, la neutropenia casi siempre promueve leucopenia. Se produce básicamente por 3 mecanismos:

* Consumo o demanda tisular excesiva: se produce leucopédesis a un ritmo que supera la liberación de los neutrófilos maduros medulares hacia la sangre. Ej: infecciones bacterianas arrolladoras.

* Hipoproducción medular: siendo sus posibles causas trastornos mieloproliferativos, administración de drogas quimioterápicas, inmunosupresores, y determinadas infecciones víricas, como las causadas por Virus de la Leucemia Felina (ViLeF), Virus de la Inmunodeficiencia Felina (VIF), parvovirus canina, peritonitis infecciosa felina (PIF), ehrlichiosis, toxoplasmosis, leishmaniosis, etc.

* Desplazamiento al compartimento marginal: esto puede observarse en casos de shock anafiláctico y endotoxemias. En estos casos la neutropenia es transitoria y desaparece rápidamente.

La principal consecuencia clínica de la neutropenia es la infección, la monocitosis compensatoria, si está presente, reduce el riesgo aun cuando la capacidad bactericida de los monocitos es inferior a la de los neutrófilos.

2-Eosinófilos

Los eosinófilos se desarrollan en la médula ósea y en menor proporción en timo, bazo, pulmones y en algunas especies de laboratorio en los nódulos linfáticos. En los individuos sanos la vida media en circulación varía de menos de una hora en caninos a 18-24 horas en humanos. Luego los eosinófilos migran dentro de los tejidos, principalmente el tracto gastrointestinal y los pulmones donde permanecen alrededor de dos días, a menos que factores antiapoptóticos prolonguen su sobrevivida a más de dos semanas. En condiciones patológicas es posible que los eosinófilos entren nuevamente al sistema circulatorio.

Los eosinófilos residen principalmente en tracto gastrointestinal, piel y tracto respiratorio; la localización y número de eosinófilos varía con la especie, estado del ciclo estral, dieta y contenido de histamina del tejido, sin embargo, la mayor cantidad de eosinófilos se encuentra en el tracto gastrointestinal.

Son células que tienen un tamaño entre 9 y 11 μm de diámetro. Presentan un núcleo segmentado, generalmente bilobulado. En el ovino puede tener tres lobulaciones, unidas por puentes de cromatina. No se observa nucléolo y la cromatina es por lo general menos densa que en el neutrófilo. Los eosinófilos contienen en su citoplasma tres tipos de gránulos: gránulos específicos, gránulos primarios y pequeños gránulos densos, así como vesículas, cuerpos lipídicos, mitocondrias, ribosomas libres, Golgi y glucógeno. Los gránulos específicos contienen potentes proteínas citotóxicas y constituyen la mayoría de los gránulos de estas células.

El citoplasma de los eosinófilos es fácilmente distinguible por sus granulaciones específicas. Estas granulaciones se tiñen anaranjado brillante con la eosina y suelen ser refringentes. Varían en tamaño y forma en las diferentes especies, pero siempre son mayores que las de los neutrófilos. En su interior, los gránulos contienen enzimas lisosómicas.

En los caninos, las granulaciones son pequeñas y regulares (Foto 43 a).

En los felinos, los gránulos son en forma de bastoncitos no refringentes (Foto 43 b).

En adición a su participación en los procesos inflamatorios, los eosinófilos cumplen un rol importante en los procesos homeostáticos e inmunes. Participan en la inmunidad mediada por células a través del reconocimiento y presentación de antígenos microbianos, virales y parasitarios. El rol inmunológico de los eosinófilos se relaciona con su capacidad de responder a partículas antigénicas (inhales, ingeridas etc). Se sabe que su número aumenta

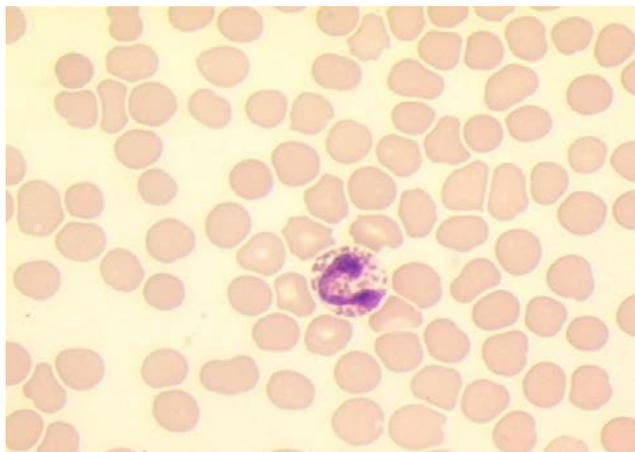


Foto 43a. Eosinófilo con sus granulaciones eosinofílicas características en un frotis de paciente canino*.

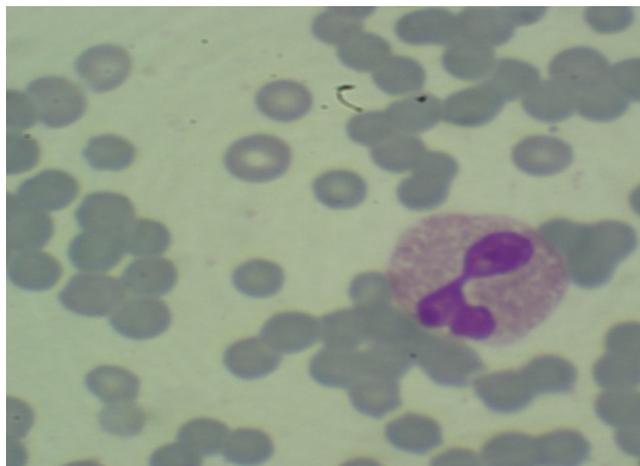


Foto 43b. Eosinófilo con sus granulaciones eosinofílicas características en un frotis de paciente felino.

en enfermedades parasitarias y alérgicas. Estas células son atraídas por quimiotaxis a las zonas inflamatorias alérgicas, donde liberan arilsulfatasa B e histaminasa, que destruiría a los mediadores químicos de la alergia.

No son capaces de fagocitar bacterias como los neutrófilos, pero sí de ingerir y destruir complejos antígeno-anticuerpo.

Aumento del número de eosinófilos: eosinofilia

a) se presenta principalmente en los estados alérgicos debidos a:

- * parasitismo intestinal grave o parasitismo externo (especialmente con pulgas).
- * alergias debidas a diversos alimentos (ej. proteínas), medicamentos (ej. penicilina), sustancias inhaladas (ej. polen) o que entran en contacto con la piel (ej. tintes). Parece que cuando una respuesta alérgica se ha presentado durante un tiempo considerable, la eosinofilia puede no ser un carácter marcado.

b) se observa muy raramente en el hipoadrenocorticismos (se confirma con el recuento absoluto de leucocitos - RAE-).

c) se encuentra ocasionalmente alrededor de un mes después de la esplecnectomía y ocurre raramente en las neoplasias o en la leucemia eosinofílica.

Disminución del número de eosinófilos: eosinopenia

Se presenta en el hiperadrenocorticismos, o con la administración de grandes dosis de corticoides.

3-Basófilos

Los basófilos se producen en la médula ósea partir de las UFC basófilas y tienen una vida media de 10 a 12 días. Son muy raros de observar en frotis sanguíneos de caninos y felinos, no así en los equinos donde suelen presentarse en forma frecuente. Son células redondeadas que tienen un tamaño entre 10 y 12 μm de diámetro.

Presentan un núcleo de forma irregular, que puede ser bilobulado y que generalmente se encuentra enmascarado por las granulaciones citoplasmáticas. Estas granulaciones son metacromáticas, grandes y de forma esférica (Foto 44).

En los caninos y felinos son más pequeñas y reunidas en grupos compactos.

Los basófilos tienen en su membrana plasmática receptores específicos para la IgE. Esta IgE se encuentra incrementada en los casos de asma, dermatitis alérgica, etc. Los basófilos liberan el contenido de sus gránulos hacia el medio intercelular y juegan un papel importante en la inmunidad mediada por células.



Foto 44. Basófilo con sus granulaciones metacromáticas características*.

Los basófilos son tan raros de hallarse en un frotis normal que no presentan un valor diagnóstico definido.

Aumento del número de basófilos: Basofilia

La basofilia en general se asocia con los trastornos mediados por IgE, y suele ser acompañada por eosinofilia tal es el caso de en enfermedades respiratorias crónicas, también pueden observarse en el caso de mastocitomas diseminadas y en los raros casos de leucemia basofílica.

Disminución del número de basófilo: Basopenia

La disminución no puede determinarse, ya que es excepcional hallar un único basófilo durante la observación de un frotis coloreado.

4-Linfocitos

Los linfocitos T y B no pueden diferenciarse entre sí por la observación microscópica de un extendido sanguíneo coloreado. La mayoría de los linfocitos residen dentro de los órganos linfoides (linfonódulos, timo, bazo y médula ósea). Los linfocitos circulantes en sangre periférica representan una pequeña proporción de la población total y la mayoría provienen de los linfonódulos. En líneas generales, podemos decir que cerca del 50 a 75% de los linfocitos circulantes son del tipo T, entre el 20 y 30% linfocitos B y un 5 a 10% de los linfocitos circulantes corresponde a las células *natural killer* (NK) que se presentan como linfocitos granulocitos grandes en la mayoría de las especies.

Los linfocitos llegan a la sangre a través del conducto torácico, circulan durante un breve período y migran a través de las células endoteliales hacia los sinusoides medulares de los linfonódulos, desde los cuales pueden repetir el ciclo migratorio. En condiciones de salud la cantidad de linfocitos que entra y sale de la sangre es constante, por lo que su recuento en sangre se mantiene en un rango particular para cada especie, situación que se ve alterada en condiciones fisiológicas específicas y en estados de enfermedad.

Los linfocitos en líneas generales sobreviven mucho más tiempo que los granulocitos, pudiendo llegar hasta años como en el caso de los linfocitos T.

Los Linfocitos B son primariamente responsables de la inmunidad humoral, sin embargo, para llevar a cabo esta respuesta requieren de la participación de los linfocitos T y macrófagos. La interacción entre los linfocitos T, B y antígeno redundante en la proliferación clonal de ambos tipos celulares. Cuando estas células antígeno específicas reconocen al mismo antígeno experimentan una respuesta hiperproliferativa secundaria. Luego de esta activación, los linfocitos B son transformados en inmunocitos y células plasmáticas productoras de inmunoglobulinas.

Los linfocitos T, son responsables de la inmunidad celular, y poseen la capacidad de migrar al sitio donde se encuentra el antígeno reconocido. También tienen funciones en la regulación de las respuestas inmunes, citotoxicidad, hipersensibilidad retardada y reacciones de injerto versus huésped.

Son células pequeñas, fuertemente teñidas, con un pequeño ribete de citoplasma de color azul pálido, alrededor de un núcleo bien basófilo, grande, con cromatina en grumos gruesos. No se evidencia nucléolo. A veces el núcleo puede estar levemente deprimido (Foto 45).

El diámetro promedio de estas células es de 7 a 9 μm . En los bovinos pueden observarse células más voluminosas con citoplasma más abundante que en los observados en otras especies.

No contienen gránulos específicos en su citoplasma. Son células esféricas o discretamente ovoides, el núcleo por lo usual redondo, la cromatina se presenta en grumos groseros; su citoplasma es muy delgado formando un anillo alrededor del núcleo.

Ante la estimulación antigénica los linfocitos son estimulados a proliferar provocando algunos cambios que morfológicamente se manifiestan como aumento de tamaño, patrón de cromatina nuclear menos densa e incremento de la basofilia citoplasmática. Si bien la mayoría de estas células permanecen en los tejidos algunas ingresan a la circulación (foto 46). A estas células se los denominan como inmunocitos, linfocitos reactivos o transformados.

La presencia de linfoblastos en sangre, caracterizadas por su gran tamaño, basofilia citoplasmática y nucléolos evidentes está asociada a casos de neoplasia linfoide.

Aumento del número de linfocitos: linfocitosis

Las cantidades de linfocitos varían con la edad, siendo más altas en animales adultos que en los jóvenes.

Puede observarse linfocitosis en:

- * Liberación de epinefrina (en especial en felinos) lo que provoca un incremento transitorio del flujo linfático asociado con las mayores contracciones musculares que arrastra a los linfocitos marginales a la circulación (esta respuesta es observable en animales sanos).

- * Respuesta a la estimulación antigénica en procesos inflamatorios crónicos o tras administración de vacunas. En estos casos aparecen frecuentemente linfocitos reactivos.

- * Leucemia linfocítica y linfoma: generalmente aparecen muchos linfoblastos neoplásicos y suele ir acompañada de anemia no regenerativa.

Disminución del número de linfocitos: linfopenia

Puede observarse linfopenia en:

- * Aumento en los niveles de glucocorticoides endógenos y exógenos que alteran el recuento linfocitario por potenciar la apoptosis de los linfocitos sensibles y también por el secuestro de éstos en médula ósea, linfonodos y bazo, lo que se manifiesta con linfopenia asociada a neutrofilia. Esto puede observarse en animales con

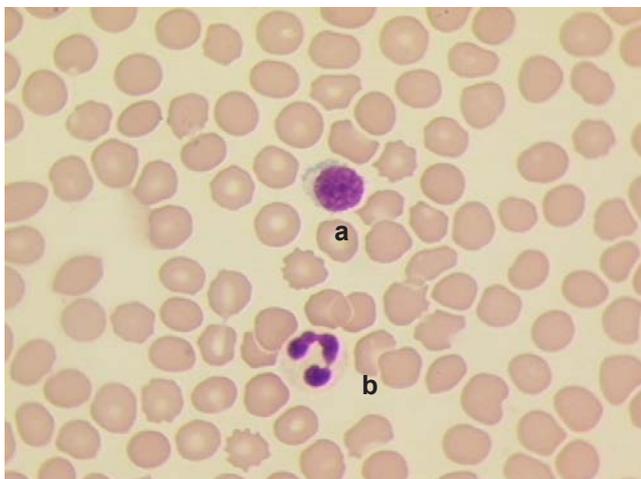


Foto 45. a) Linfocito en la mitad superior con citoplasma azul claro y b) Neutrófilo segmentado en la mitad inferior (objetivo 100x).



Foto 46. Linfocito reactivo con núcleo de cromatina densa y citoplasma bien basófilo y zona perinuclear pobremente definida.

infecciones bacterianas o virales sistémicas graves, enfermos, hospitalizados como consecuencia de estrés o en el síndrome de Cushing.

* La pérdida de linfa ya sea por ruptura del conducto torácico o por inflamaciones severas de los tejidos linfoides gastrointestinales redundan en linfopenia.

* Uso de drogas inmunosupresoras e irradiación, que provocan destrucción de los linfocitos.

5-Monocitos

Los monocitos son células del sistema retículo endotelial producidas en la médula ósea, que se transforman en macrófagos aproximadamente 20 h después de migrar desde la sangre a los tejidos. Constituyen la 2ª línea de defensa del organismo frente a los microorganismos, fagocitando a aquellos que resistieron la acción de los neutrófilos, así como a otras partículas de mayor tamaño como células necróticas o infectadas. Moderan la respuesta inflamatoria, por medio de la liberación de mediadores inflamatorios: prostaglandinas, sustancias quimiotácticas, complemento etc. Son las denominadas células presentadoras de antígeno: presentan los antígenos a los linfocitos T. Intervienen en el metabolismo del hierro: preservan para su posterior utilización, o incorporan a la transferrina (para los normoblastos en desarrollo de la médula ósea) el que se libera tras la fagocitosis de los eritrocitos viejos. Los monocitos son células que miden entre 12 y 17 μm de diámetro, presentan un núcleo de aspecto oval o ligeramente escotado y grande en relación a la célula (foto 47 a y b). Pueden encontrarse uno o más nucléolos. El citoplasma es de color azul grisáceo y pueden encontrarse en él gránulos azurófilos.

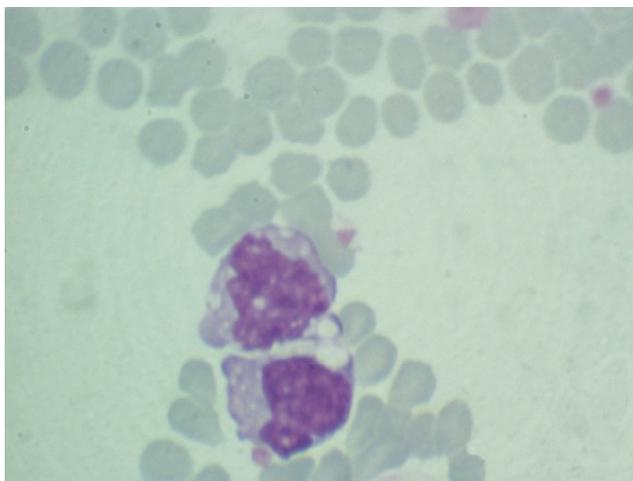


Foto 47a. Monocito con núcleo irregular, cromatina laxa y citoplasma basófilo y vacuolado.

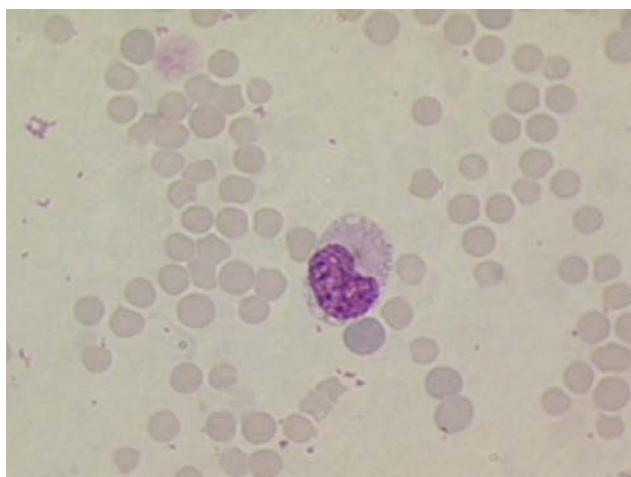


Foto 47b. Monocito célula grande con núcleo arriñonado de cromatina laxa y con citoplasma azul claro-grisáceo puede o no presentar vacuolas.

Aumento del número de monocitos: monocitosis

La monocitosis puede presentarse en procesos inflamatorios agudos y crónicos como respuesta a infección bacteriana y micótica, también en reacciones granulomatosas o piogranulomatosas, en respuesta a neoplasias y en presencia de niveles elevados de glucocorticoides. La monocitosis es generalmente acompañada por neutrofilia.

Otra causa no tan común de monocitosis es la leucemia monocítica o mielomonocítica.

Disminución del número de monocitos: monocitopenia

En condiciones de salud pueden observarse un número reducido o ningún monocito en sangre, lo que no tiene importancia clínica por lo que el término monocitopenia no suele ser utilizado.

Fórmula leucocitaria relativa y absoluta

Una vez realizado el recuento diferencial de 100 leucocitos en el frotis teñido, se procede a la obtención de la fórmula leucocitaria relativa y absoluta.

La fórmula leucocitaria relativa corresponde a la expresión en porcentaje de cada uno de los glóbulos blancos que se han contado en el frotis.

Como ejemplo vamos a mencionar que, si se contaron 2 neutrófilos en banda, 72 neutrófilos segmentados, 3 eosinófilos, 1 basófilo, 17 linfocitos y 5 monocitos, la fórmula leucocitaria relativa quedará de la siguiente manera:

Neutrófilos en banda	2 %
Neutrófilos segmentados.....	72 %
Eosinófilos	3 %
Basófilos	1 %
Linfocitos.....	17 %
Monocitos.....	5 %
Total.....	100 %

Con respecto a la fórmula leucocitaria absoluta, esta se obtiene relacionando la fórmula relativa con el número total de glóbulos blancos por μl o mm^3 obtenido en el recuento realizado en la cámara de Neubauer.

Siguiendo con el ejemplo anterior, si el recuento total nos dio un resultado de 11.500 glóbulos blancos por μl , para obtener la fórmula leucocitaria absoluta se debe proceder de la siguiente manera:

Número de neutrófilos obtenidos en la fórmula leucocitaria relativa: 72

Número de glóbulos blancos por μl : 11.500

Fórmula:

En 100 glóbulos blancos: 72 neutrófilos

En 11.500 glóbulos blancos: X neutrófilos (8.280 neutrófilos)

Repitiendo este procedimiento para cada uno de los glóbulos blancos, obtenemos en nuestro ejemplo: Si realizamos la suma de cada valor de la fórmula leucocitaria absoluta, nos debe dar como resultado el valor total de glóbulos blancos por μl o mm^3 obtenido en el recuento realizado en la cámara de Neubauer.

CAPÍTULO 4

Técnicas hematológicas complementarias

1. Recuento absoluto de eosinófilos (RAE)

Se lo solicita en casos de sospechar eosinopenia, debido a que si el recuento relativo en el frotis sanguíneo nos dio 0%, no podemos indicar la eosinopenia. Específicamente se presenta en enfermedades como el hiperadrenocorticismismo o Síndrome de Cushing. Reactivo:

Eosina acuosa al 2 %	10 ml
Acetona	10 ml
Agua destilada c.s.p.	100 ml

Se la debe mantener refrigerada a 4 °C y tiene una estabilidad de 10 días.

1.1 Procedimiento

- 1) Se diluye la sangre en una proporción 1/20 con el reactivo. En un tubo se coloca 0,38 ml del reactivo más 20 µl de sangre con anticoagulante EDTA.
- 2) Se carga la cámara de Neubauer.
- 3) El recuento se debe realizar inmediatamente después de llenada la cámara. Los eosinófilos se reconocen sobre un fondo claro, como esferas brillantes de un color rojo intenso, cuyo núcleo está más o menos cubierto por los gránulos visibles en el interior del citoplasma.

Los eosinófilos se tiñen muy bien, los demás leucocitos son apenas visibles y los hematíes no se aprecian salvo alguna excepción. La fórmula que se aplica es la misma que para el conteo de glóbulos blancos, por lo tanto: $N^{\circ} \text{ contado} \times 50 = \text{número absoluto de eosinófilos}$.

1.2. Interpretación

La eosinopenia puede deberse a un estrés agudo debido a la liberación de adrenalina (epinefrina) por miedo y/o excitación. Causan una leve eosinofilia seguida de una eosinopenia moderada. El estrés crónico por dolor o enfermedad provoca liberación de glucocorticoides endógenos, lo que causa eosinopenia en adición a la neutrofilia, linfopenia y, en el canino, monocitosis. En el hiperadrenocorticismismo o Síndrome de Cushing la eosinopenia se presenta como consecuencia de la producción y la liberación excesiva de cortisol por una neoplasia adrenal, aunque también puede ser el resultado de una estimulación adrenal (en el 90 % de los casos caninos). En los casos de Síndrome de Cushing en perro y gato, no se encuentran ningún eosinófilo. La administración de glucocorticoides o ACTH, para el control de la inflamación o el prurito, produce el mismo efecto esteroide al descrito arriba.

2. Eritrosedimentación

El propósito de esta prueba es medir la velocidad con la que sedimentan los glóbulos rojos de una columna de sangre durante un tiempo determinado. En caninos y felinos este tiempo es de una hora. La velocidad de eritrosedimentación (VSE), es completamente inespecífica. Puede utilizarse tanto como prueba de orientación para descubrir la presencia de una enfermedad, o como un índice del progreso de la misma. Sin embargo, el hallazgo de una VSE normal, no excluye la posibilidad de que exista enfermedad.

Material necesario:

- Pipetas de Westergreen: Son pipetas de vidrio estandarizadas, que tienen una graduación de 0 a 200 mm.
- Gradillas de Westergreen

Se realiza el llenado de la pipeta con sangre anticoagulada hasta el enrase cero, la cual se coloca en forma vertical en una gradilla de Westergreen y se deja reposar el tiempo requerido para la especie. Al terminar dicho período se mide la altura del plasma claro de la parte superior de la pipeta y nos dará un resultado en mm (Foto 48).



Foto 48. Posición de la pipeta de Westergreen en la gradilla para la lectura de la velocidad de eritrosedimentación.

Hay dos factores que determinan la velocidad de sedimentación:

1. factores celulares como por ej. la carga iónica de los glóbulos rojos, su tamaño y número.
2. factores plasmáticos como por ej. la viscosidad de la sangre y el contenido proteico del plasma. La eritrosedimentación generalmente se encuentra aumentada en todos los procesos infecciosos agudos y crónicos y en la mayoría de las enfermedades neoplásicas y degenerativas ya que están relacionadas con alteraciones de las proteínas del plasma, especialmente con el aumento de fibrinógeno plasmático, que incrementa la formación de aglomerados de glóbulos rojos haciéndolos más pesados que individualmente, lo que provoca que sedimenten más rápido. Por lo que podríamos concluir que se debe tener en cuenta cuando está alterada y no cuando es normal ya que no excluye la posibilidad de que exista una enfermedad por ser una prueba inespecífica como se ha mencionado anteriormente.

3. Recuento de reticulocitos

Los reticulocitos son eritrocitos jóvenes o inmaduros, que se hallan en la sangre circulante, también denominados hematíes granulados o eritroblastos, que han perdido su núcleo, pero que conservan grandes cantidades de ARN ribosomal citoplasmático. Los metarrubricitos (estado previo) a nivel medular extruyen su núcleo y se transforman en reticulocitos. Estos continúan desarrollándose en la médula ósea durante 72 h antes de entrar en la circulación general, una vez que entran en 24 h se transforman en células adultas (eritrocitos).

La sustancia granulosa que presentan en su interior (residuos de protoporfirinas que no se utilizaron en la síntesis del grupo Hem), es posible evidenciarla con técnicas especiales de tinción, como por ejemplo la coloración supravital con azul brillante de cresil o azul de metileno nuevo.

Esta coloración supravital provoca la precipitación del ARN, se une a la protoporfirina y forma la sustancia granulosa evidenciable, es decir, un complejo constituido por proteína-ARN-colorante.

Según la cantidad de ARN presente, varía el grado de precipitación y por ende la cantidad de sustancia granular, esto permite clasificar a los reticulocitos en:

- Agregata o Retículo incompleto: la red es más abierta o disgranada.
- Punctata o Puntiformes: con poca sustancia granular y muy disgregada.

Las formas menos maduras de los reticulocitos tienen grandes cantidades de ribosomas intracelulares y ARN. Son los denominados reticulocitos agregata. Tras un período de maduración de aproximadamente 12 h, las formas agregata se transforman en punctata (los restos de ARN aparecen como puntos).

En el perro existe un número aproximado de más del 1 % de reticulocitos de tipo agregata. En el gato en cambio existen del tipo agregata y punctata (Foto 49).

3.1. Procedimiento para el cálculo de reticulocitos

a) Coloración:

Se realiza una tinción supravital (=coloración vital) de una extensión de sangre con colorantes tales como el azul brillante cresil o el azul de metileno nuevo.

b) Reactivo

Azul de metileno nuevo o	
Azul brillante cresil	0,5 g
Oxalato de potasio	1,6 g
Agua destilada c.s.p.	100 ml

NOTA: Filtrar el reactivo antes de usarlo.

c) Procedimiento

- 1) Colocar cantidades iguales de sangre y de colorante en un tubo de hemólisis y mezclar.
- 2) Incubar durante más de 15 min a 37 °C
- 3) Mezclar nuevamente y hacer un extendido delgado. Dejar secar al aire.
- 4) Colocar metanol 5 min.
- 5) Cubrir con Giemsa (2 gotas por cada ml de buffer) 30 min.

6) Se realiza el recuento con objetivo de inmersión (x100).

d) Recuento

Contar 100 reticulocitos y anotar cuantos campos microscópicos se utilizaron para llegar a esa cantidad (por ejemplo 20 campos 100 reticulocitos). Luego contar el total de glóbulos rojos en el 10% de esos campos que fueron necesarios para contar los 100 reticulocitos y establecer la siguiente relación:

20 campos.....	100 reticulocitos
2 campos.....	Ej. 300 GR
20 campos.....	habrá 3000 GR
Entonces:	
cada 3000 GR.....	100 reticulocitos
cada 100.....	X reticulocitos
El resultado se expresa en % = 3 % (Tabla 6).	

Fuentes de error

- Cuerpos de Heinz, siderocitos y partículas de tinción precipitada, con reticulocitos que causan confusión.
- Conteo de áreas del frotis donde los eritrocitos no estén distribuidos uniformemente.
- En el caso de pacientes anémicos, empleo de una cantidad insuficiente de sangre en relación a la cantidad de eritrocitos presentes en la muestra, por lo que se aconseja duplicar la relación de la cantidad de sangre con respecto al colorante supravital (azul brillante de cresil).
- La esplenectomía da como resultado la presencia de otras inclusiones en glóbulos rojos que se pueden confundir con reticulocitos.

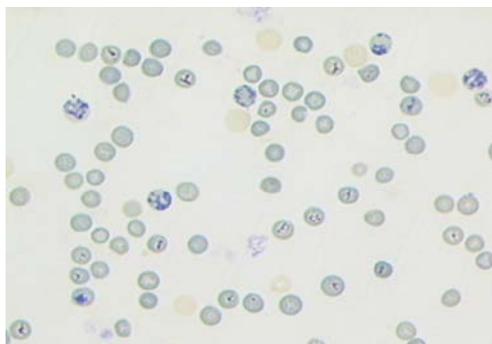


Foto 49. Reticulocitos eritrocitos con restos de ARN en su interior en forma de agregados reticulares o puntiformes de color azul. Frotis sanguíneo felino teñido con Azul Brillante de Cresil (100x).

3.2. Interpretación

La presencia de estos elementos es un índice de una elevada regeneración de glóbulos rojos, con aumento de la eritropoyesis, lo que nos puede indicar el grado de regeneración de un proceso anémico.

Es frecuente encontrarlos elevados en los casos de hemorragias crónicas y se encuentran disminuidos en los casos de depresión de la medula ósea.

En los gatos, la maduración de los reticulocitos es más lenta, por lo que su número no refleja en forma exacta una liberación medular reciente.

La cuantificación de los reticulocitos es el modo más sencillo y constante para evaluar la eritropoyesis medular y por lo regular obvia la necesidad de la aspiración y biopsia medular.

El lapso de vida en sangre es menos a 24 h antes de que maduren en eritrocitos, de modo que su can-

tividad en sangre periférica refleja la liberación medular reciente de células eritroides. Un hemograma de rutina debería incluir los datos de los reticulocitos cuando el hematocrito está por menor a 25% en caninos y 30 en felinos.

En las anemias las células maduras están reducidas en forma variable en cantidad, lo cual exagera el porcentaje de reticulocitos.

Porcentaje de reticulocitos

Tabla 6 Grado de regeneración en anemias

Anemia	Porcentaje de reticulocitos	
	Perro	Gato
Normal	1	0-0,4
Leve	1-4	0,5-2
Moderado	5-20	3-4
Marcado	21-50	>5

Perman y Schall (1983).

3.2.1. Índice reticulocitario

También se denomina índice de producción reticulocitaria. El índice reticulocitario (IR) es sugerido como una alternativa del indicador de producción de reticulocitos; y es un parámetro regular para evaluar la producción medular de hematíes, porque es ajustado para el grado de la anemia. Pasos para calcular el IR Porcentaje de reticulocitos corregido (PRC) % reticulocitos x Hto del paciente

PRC =

Hto normal de la especie. Por ejemplo un canino que tiene un Hto de 45 % y un % de reticulocitos de 7% $7 \% \times 15 \%$

$$PRC = \frac{7 \% \times 15 \%}{45 \%} = 2,3 \%$$

La liberación de reticulocitos medulares es más rápida que lo normal en perros anémicos. Lo que indica que estos reticulocitos viven más de 24 horas. Por lo tanto este hecho exagera el porcentaje de reticulocitos, de modo que PRC se vuelve a ajustar dividiéndolo por el tiempo de maduración esperado en días (Tabla 7), el cual varía con la intensidad de la anemia

PRC

$$IR = \frac{PRC}{\text{Vida media reticulocitos (días) \#}}$$

Lapso de vida de los reticulocitos en días según el Hematocrito:

Por lo expuesto: 2,3 %

$$IR = \frac{2,3 \%}{2,5 \text{ días}} = 0,92$$

Tabla 7 Lapso de vida de reticulocitos según hematocrito en caninos.

Hto %	Vida media de los reticulocitos (días)
45	1
35	1,5
25	2
15	2,5

A través del índice reticulocitario (IR) podemos clasificar a las anemias en regenerativas y arregenerativas. Siendo este >2 o <2 respectivamente. Por lo tanto el IR de nuestro ejemplo denota una regeneración inadecuada a pesar de tener un porcentaje de reticulocitos inicial del 7 %.

CAPÍTULO 5

Hemostasia

La hemostasia es un proceso complejo en el que están involucrados los vasos, las plaquetas y los factores de la coagulación. La misma cumple dos funciones principales:

- 1) mantener la sangre en un estado líquido, que permita la circulación en los vasos sanguíneos;
- 2) suprimir la salida de sangre desde el espacio intravascular a través de un vaso lesionado; este último proceso debe ser rápido, localizado y cuidadosamente regulado.

Por lo tanto el objetivo de la hemostasia es mantener un equilibrio entre la coagulación y la fibrinólisis para preservar la estructura y la función de los vasos y la fluidez de la sangre, para lo cual se requiere:

Número normal y función conservada de las plaquetas. Factores y cofactores del sistema de la coagulación en concentración adecuada a efectos de mantener el volumen sanguíneo y permitir un ambiente propicio para la curación de heridas y la restauración de la integridad vascular y, además, el sistema fibrinolítico debe estar intacto para localizar la coagulación al área de daño vascular.

Los trastornos de la hemostasia son la consecuencia de un desequilibrio de estos tres elementos, resultando en hipercoagulación y trastornos tromboembólicos o bien en hipocoagulación y hemorragia.

Para su estudio la dividimos en hemostasia primaria o fase vascular y plaquetaria, hemostasia secundaria o fase plasmática de la coagulación y hemostasia terciaria o fase de fibrinólisis.

Hemostasia primaria

Fase vascular: frente a una lesión vascular se produce una vasoconstricción transitoria para reducir el flujo de sangre en el vaso dañado.

Fase plaquetaria: implica la adhesión plaquetaria a la matriz subendotelial del vaso dañado y los procesos de activación y agregación plaquetaria con la formación de un tapón hemostático primario. La adherencia de las plaquetas está mediada por el factor de von Willebrand (vW).

Una consecuencia importante de la activación plaquetaria es la exposición de la fosfatidilserina (FS) en la membrana externa de la plaqueta. La misma proporciona una superficie procoagulante sobre la cual se ensamblan los factores de la coagulación implicados en la hemostasia secundaria. La exposición de FS establece un vínculo esencial entre la hemostasia primaria y secundaria.

Hemostasia secundaria

El sistema de coagulación es un conjunto de reacciones interrelacionadas muy regulado que implica la conversión de proenzimas en enzimas activas. Cada paso amplifica al siguiente, culminando con la generación de trombina que convierte el fibrinógeno en fibrina.

Tradicionalmente el sistema de coagulación se ha considerado como un sistema de cascada con vías extrínseca, intrínseca y común, lo que es útil para entender las alteraciones y para las pruebas de laboratorio *in vitro*, pero la coagulación no se produce de este modo *in vivo*.

Las etapas primarias y secundarias de la coagulación se encuentran unidas y se producen simultáneamente, por lo que estos procesos se explican actualmente a través del modelo celular de la coagulación que posee tres etapas (iniciación, amplificación, propagación).

Hemostasia terciaria

El producto final de la hemostasia es un coágulo sólido, formado por plaquetas agragadas, inmerso en una red de fibrina. El sistema fibrinolítico evita la formación excesiva de coágulos mediante la ruptura de bandas de fibrina. La fibrinólisis es la disolución del coágulo de fibrina formado, que permite restaurar el flujo de sangre normal

1. Plaquetas sanguíneas

Las plaquetas o trombocitos, son discos planos (2-4 μm) con pequeños gránulos rojizos en su interior. Son producidas a partir de los megacariocitos de la médula ósea, y liberadas directamente a la sangre circulante donde su vida media es de 10 días. Su producción está regulada por la hormona trombopoyetina. La reserva esplénica de plaquetas constituida por el 20-30 % de la masa plaquetar circulante, puede afectar el número de estas células, así una contracción esplénica incrementa el número circulante, mientras que una congestión esplénica disminuye su número. Ante una lesión vascular, la hemostasia primaria (fase vascular/plaquetar) comienza con una vasoconstricción desencadenada por el daño vascular, las plaquetas sanguíneas toman contacto con el colágeno subendotelial y comienza la agregación hasta formar el tapón hemostático suficiente para controlar el sangrado de los vasos pequeños. La adherencia de las plaquetas al vaso está mediada por el factor von Willebrand (vW) proteína formada por las células endoteliales y megacariocitos, que se encuentra en el plasma y en los gránulos plaquetares. A nivel plasmático, el factor vW se asocia al factor VIII de la coagulación, protegiéndolo en su vida media circulante. Las plaquetas una vez adheridas, exponen sus receptores de superficie al fibrinógeno soluble desencadenándose la agregación plaquetaria, las plaquetas agregadas cambian de forma y promueven la liberación de sustancias que incrementan la agregación y provocan una vasoconstricción local intensa (se libera adenosin difosfato ADP, que activa la fosfolipasa plaquetar iniciándose la síntesis del tromboxano). Sobre las plaquetas agregadas, se liberan factores de la coagulación asociados con las membranas plaquetares, entre ellos el fibrinógeno, el factor V y VIII y fosfolípidos plaquetar que aceleran el sistema intrínseco y común de la coagulación. Finalmente, se constituye una masa plaquetaria o trombo plaquetario, que conforma el definitivo tapón hemostático.

Las hemorragias de poco volumen como petequias, equimosis sugieren un defecto trombocítico porque la falta del tapón plaquetario posibilita la fuga de la sangre fuera del vaso; pero antes que la hemorragia se extienda, los factores coagulantes normales en contacto con el colágeno de alrededor del vaso conforman el coágulo de fibrina para detener el sangrado. La epistaxis a menudo se asocia con trombopatías, tal vez debido a la escasez de tejido entre los vasos y la cavidad nasal. En contraste, los defectos de la coagulación se caracterizan por grandes hemorragias como hematomas y hemartrosis. En las coagulopatías se forma un tapón plaquetario, pero como no es estabilizado, por las bandas de fibrina, se fragmenta posibilitando el sangrado.

El defecto o la deficiencia variable de uno o más factores coagulantes retarda la formación del coágulo, el cual debería formarse con rapidez después del contacto con el colágeno en el tejido intersticial. Durante este lapso, una gran cantidad de hemorragia puede suceder antes de que el coágulo fibrinoso o la presión de los tejidos adyacentes detenga el sangrado.

2. El perfil hemostático comprende

- Recuento y morfología plaquetaria.
- Tiempo de sangría (además factor vW, anticuerpos antiplaquetares, prueba de retracción del coágulo, adherencia y agregación plaquetaria) para la función trombocítica.
- Tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT) para las rutas intrínsecas y común.
- Tiempo de protrombina (TP), para las rutas extrínsecas y común.
- Cuantificación de los Productos de la Degradación de la Fibrina (PDF) para la evaluación del nivel de formación /degradación del coágulo.

Los problemas de los trombocitos son la causa más prevalente del sangrado y se los debe evaluar en primer término.

2.1. Recuento de plaquetas

Es de utilidad para clasificar la intensidad de una trombocitopenia y para vigilar el curso de una afección o la respuesta a un tratamiento. Existen dos formas:

- Forma Indirecta:

Podemos hacer una estimación del número de plaquetas a través de un frotis sanguíneo teñido con May Grünwald- Giemsa, que es más rápida pero menos precisa (Fotos 50 y 51). La lectura en el frotis se realiza en forma de guarda griega igual que para identificar el recuento porcentual de los diferentes leucocitos, contabilizando el número de plaquetas promedio en 10 campos microscópicos con el objetivo de inmersión. Los perros y gatos normales tienen de 8 a 29 plaquetas pero pueden presentarse más grandes estando esto relacionado con su mayor capacidad funcional. Esto fue empleado para explicar el por qué algunos perros con recuentos por debajo de $100.000/\text{mm}^3$ no sangran.

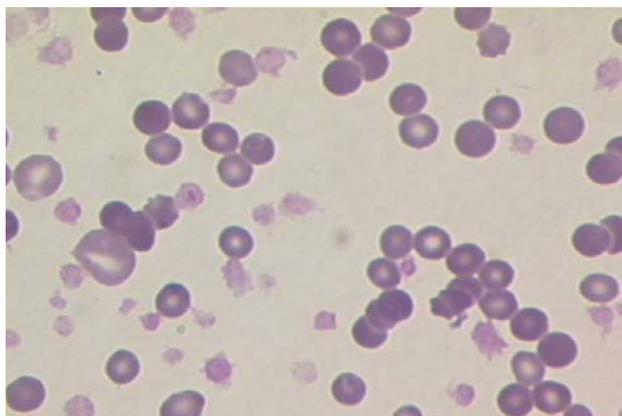


Foto 50. Plaquetas son discos planos (2-4 μm) con pequeños gránulos rojizos en su interior, ubicadas entre los eritrocitos. Frotis sanguíneo felino teñido con May Grünwald – Giemsa (100x).

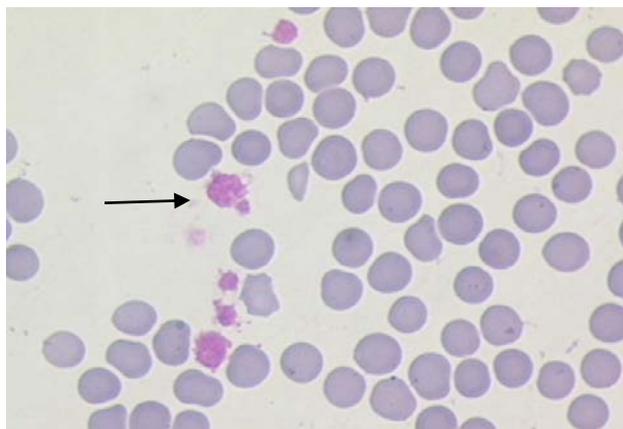


Foto 51. Macroplaquetas (plaquetas de mayor tamaño que el normal).*

· Forma directa (foto 52):

La sangre se diluye con una sustancia que hemoliza los glóbulos rojos y se cuentan en la cámara de Neubauer modificada.

Reactivo:

Líquido diluyente:

Oxalato de amonio en agua destilada al 1%.

Guardar en heladera y filtrar justo antes de usarlo.

Procedimiento

- 1) Usar sangre con EDTA. Que evita la aglutinación plaquetaria.
- 2) Diluir la sangre 1/20. Pipetear 0,38 ml de diluyente en un tubo de hemólisis y agregarle 20 µl de sangre.
- 3) Dejar reposar esta dilución durante 10 minutos. Es para favorecer la lisis de los eritrocitos
- 4) Cargar la cámara de Neubauer.
- 5) Colocar la cámara, en una cápsula de Petri que tenga en su interior un algodón mojado (cámara húmeda), durante 20 minutos para que las plaquetas sedimenten.

6) El conteo se realiza de la misma manera que para los glóbulos rojos. En el retículo central sobre 5 cuadrados, los cuatro de los extremos y el central. La fórmula es la siguiente:

$$\frac{N \times 20 \times 10 \times 400}{80} = N \times 10^3/\mu\text{l}$$

N: nº de plaquetas contadas

20: dilución de la muestra

10: profundidad de la cámara para llevar al mm³

400: cuadraditos totales del retículos central de la cámara

80: total de cuadraditos contados (5 cuadrados x 16 cuadraditos).

Los valores normales se expresan en la Tabla 8.

Tabla 8 Valores de referencia de plaquetas

Valores de referencia de plaquetas	
Caninos	200-500 x10 ³ /µl
Felinos	300-800 x10 ³ /µl



Foto 52. Materiales para el recuento de plaquetas.

2.2. Tiempo de sangría

Es un método *in vivo* que nos permite medir la capacidad funcional de las plaquetas para taponar una herida pequeña. Evalúa la funcionabilidad plaquetaria que está relacionada íntimamente con el factor plasmático de vW. No es necesario realizarla si previamente hemos detectado una trombocitopenia, ya que el tiempo de sangría nos dará prolongado. Para realizar la medición, se realiza una pequeña incisión con lanceta de Franklin que posee estandarizado la profundidad y longitud de la misma (generalmente en el pabellón auricular o la mucosa bucal) permitiendo que la sangre salga libremente sin ejercer presión. Cada 30 segundos, se seca la sangre extravasada sin tocar la piel, mientras se toma el tiempo hasta que cese espontáneamente la hemorragia. El tiempo normal va desde 1 a 4 minutos en caninos y en felinos hasta 2 minutos. El tiempo de sangría importa cuando está aumentado en exceso, indicándonos una alteración funcional de las plaquetas relacionada con el factor vW.

2.3. Detección del factor von Willebrand

Esta prueba se usa para diferenciar la hemofilia A (deficiencia del factor VIII con una concentración del antígeno vW normal) de la enfermedad de von Willebrand (deficiencia del factor VIII con concentración del antígeno vW disminuido).

2.4. Antígenos plaquetares

Solo se realiza en laboratorios especializados. Un resultado positivo indica trombocitopenia inmunomediada primaria o secundaria.

2.5. Prueba de retracción del coágulo

Es una prueba que nos permite evaluar la función plaquetar de manera subjetiva. Una vez formado el coágulo, las plaquetas se contraen, eliminando el suero fuera del mismo. La sangre se recoge en un tubo de vidrio y se permite que se coagule. El tubo se mantiene a 37 °C y se inspecciona cada 2-4 h, en las cuales el coágulo se debe haber contraído el 50 % de su volumen original. Cuando no se produce se puede sospechar bien una disminución en el número o una pérdida de la función.

Interpretación:

La trombocitopenia representa la causa más frecuente de hemorragia espontánea en el perro. Recuentos plaquetares inferiores a $25 \times 10^3/\text{mm}^3$ son frecuentes en animales con trombocitopenias inmunomediadas, mientras que recuentos entre $50-75 \times 10^3 \text{ mm}^3$ son más frecuentes en animales con hiperesplenismo, toxicidad por rodenticidas etc.

En los frotis se observan generalmente en grupos, tienen la forma de un disco plano biconvexo, de aproximadamente 3 μm de diámetro, de color azulado, entre los eritrocitos; pero pueden presentarse más grandes, esto se relaciona con su mayor capacidad funcional. El concepto de la relación entre el número de plaquetas, tamaño y funcionabilidad de las mismas, se ha utilizado para explicar el por qué algunos perros con recuentos por debajo de $100 \times 10^3/\text{mm}^3$ no sangran. Las anomalías de la hemostasia primaria raramente son causadas por alteraciones vasculares. La trombocitopenia es la causa más frecuente. Los mecanismos que la producen pueden deberse a:

- a) Disminución en la producción

Las alteraciones incluyen la anemia aplásica, la hipoplasia de megacariocitos, de origen inmunológico

o inducido (estrógenos, fenilbutazona) o infecciones por retrovirus.

b) Aumento en la utilización, secuestro o destrucción

Coagulopatía de consumo ej: Coagulación Intravascular Diseminada (CID) en el que el aumento de la concentración plasmática de productos de degradación del fibrinógeno provoca una competición con el fibrinógeno por los receptores de membrana plaquetar, alterando la agregación plaquetaria, trombocitopenia inmunomediada o inducida, infecciones virales o bacterianas, síndrome urémico, aspirina o fenilbutazona que inhiben la formación de tromboxanos, congestión/torsión esplénica, hemorragias agudas o endotoxemias (por secuestro de plaquetas en los vasos).

La trombocitosis es el aumento de plaquetas circulantes y puede predisponer a una enfermedad tromboembólica. Puede darse en forma transitoria tras una hemorragia aguda o en forma persistente en la anemia por deficiencia de hierro. La contracción esplénica por miedo, ejercicio o dolor provoca un aumento de plaquetas circulantes al igual que en una esplenectomía debido a la reserva que posee este órgano de plaquetas (20-30 %). En la trombocitemia esencial (síndrome mieloproliferativo) caracterizado por episodios recurrentes de sangrado espontáneo, debido a la disfunción plaquetar y o episodios tromboembólicos, puede aparecer trombocitosis.

Disfunción de plaquetas

Pueden ser congénitos o adquiridos. Los congénitos son poco frecuentes a excepción de la enfermedad de Von Willebrand. Los adquiridos son más frecuentes y suelen ser secundarios a uremias, gammopatías monoclonales, fármacos, etc.

2.6. Tiempo de coagulación (TC)

El tiempo de coagulación es una prueba que nos aproxima a conocer si el paciente presenta dentro de límites normales, a los componentes plasmáticos que actúan en la coagulación sanguínea. Es una prueba poco sensible, ya que un tiempo normal puede aparecer aun con un recuento de plaquetas bajo, o con protrombina menor a la normal. Si es importante cuando el tiempo de coagulación es excesivamente superior al normal, lo que nos indica con seguridad una alteración en los componentes o en los mecanismos normales de la coagulación. Para realizar esta prueba se extrae sangre que se distribuye en tres tubos. Se agita el primero hasta que coagule (nos damos cuenta porque podemos invertir el tubo sin derramar); luego se agita el segundo también hasta que coagule; y finalmente se espera que se produzca el coágulo en el tercer tubo (sin agitar). El tiempo se debe tomar desde el momento de la extracción hasta la formación del coágulo en el tercer tubo. La finalidad de utilizar tres tubos es simplemente para que con los dos primeros nos vayamos aproximando al tiempo (al agitar, por contacto con el vidrio, la sangre coagula más rápido en los dos primeros). Si esperásemos el tiempo promedio con un solo tubo y probásemos si coaguló, si el tiempo es mayor al normal, estaríamos favoreciendo la vía extrínseca de la coagulación, obteniendo un resultado alterado, en cambio, al utilizar los dos primeros tubos, con ellos ya nos vamos dando cuenta si el tiempo de coagulación está alterado, sin mover innecesariamente el tercer tubo. El rango normal es menor a 6 minutos, pero como dijimos anteriormente, es poco sensible y no importa tanto si está dentro de ese tiempo, sino cuando se encuentra aumentado.

2.7. Tiempo de coagulación activado (TCA)

Es una modificación de la prueba anterior, es más sensible pero al igual que la anterior sólo aparece aumentada cuando la deficiencia del factor de la coagulación es < al 50 % o en las trombocitopenias graves por deficiencia del factor plaquetario 3 (FP3). La sangre se recoge en tubos preparados comercialmente que contienen el activador químico de la vía intrínseca. El TCA es de 60-100 segundos en el perro y < a 60 segundos en el gato.

2.8. Pruebas de coagulación con plasma citratado

Toma de muestra: Se utilizan jeringas de plástico y tubos comerciales con citrato trisódico al 3,8 % (1 parte de citrato + 9 partes de sangre fresca). Se homogeneiza la muestra y debe ser centrifugada durante 5-10 minutos a 3000 r.p.m. y separado el plasma dentro de los 30 minutos de realizada la extracción. En caso de no procesarse inmediatamente la muestra debe refrigerarse no más allá de las 4 h, de modo contrario debe congelarse a -20 °C. El congelado debe ser rápido al igual que el descongelado a 37 °C. No puede descongelarse y congelarse nuevamente.

a. Tiempo de protrombina (TP)

Esta técnica evalúa la vía extrínseca y común (factores VII, X, V, II y I). Para esto, al plasma citratado se le adiciona tromboplastina y cloruro de calcio, realizando esta prueba a 37 °C y se espera la formación del coágulo. La tromboplastina en el plasma recalcificado, activa solamente el mecanismo extrínseco de la coagulación, siendo este el único método que nos lo mide. El tiempo es variable de acuerdo a la tromboplastina utilizada (se obtiene a partir de extractos de tejidos) por lo que es necesario conocer previamente el valor normal de esta. Es una prueba muy sensible para comprobar la deficiencia del factor VII puesto que éste tiene una vida media muy corta. El tiempo normal en caninos y felinos es de hasta 10 segundos.

b. Tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT o KPTT)

Esta prueba evalúa las vías intrínseca y común (factores XII, XI, IX, VIII, X, V, II, y I). Es mucho más sensible que el TC y el TCA ya que puede aparecer aumentado cuando algún factor de la coagulación en forma individual se reduce a menos del 50 % su actividad. El valor normal en caninos y felinos está entre 15-25 segundos, pero en general se puede decir que el tiempo está prolongado si es superior en un 20-25 % al del control.

2.9. Determinación de los Productos de Degradación del Fibrinógeno (PDFs)

Se determinan por aglutinación de partículas de latex cubiertas por anticuerpos a fragmentos de fibrinógeno humano. La reactividad cruzada entre especies hace a la prueba útil en los animales. El aumento de los PDFs se produce fundamentalmente en la CID.

2.10. Otras pruebas

Tiempo de Trombina (TT):

Mide la velocidad de conversión del fibrinógeno en fibrina y por tanto evalúa la vía común. Está prolongado en los casos de hipofibrinogenemia y también por la presencia de sustancias que inhiben la acción de la trombina sobre el fibrinógeno (heparina o los productos de degradación del fibrinógeno que compiten con el fibrinógeno del paciente para unirse a la trombina).

Pruebas para factores específicos

Se realizan en laboratorios especializados sobre todo

Factor VIII (Hemofilia A y Enfermedad de von Willebrand) y Factor IX (Hemofilia B).

Antitrombina III

Proteína C

Ensayos de factores fibrinolíticos

Interpretación

Los animales con alteraciones de la hemostasia secundaria no presentan petequias o equimosis, la gravedad del sangrado está directamente relacionada con la deficiencia del factor o factores de la coagulación involucrados.

Alteraciones Cuantitativas congénitas de la coagulación

Deficiencia de precalicreina

Alteración autosómica recesiva, muy rara de diagnosticar en los animales domésticos. Los animales no presentan tendencia al sangrado el KPTT está prolongado y el TP y TT son normales.

Deficiencia del factor XII

Es una alteración autosómica recesiva en el gato y autosómica dominante en el perro. No se asocia a diátesis hemorrágica. El KPTT está prolongado y el TP y TT son normales.

Deficiencia del factor XI.

Esta deficiencia es rara solo se ha diagnosticado en caninos Springer Spaniel y Kerry Blue Terrier. Estos animales no suelen presentar sangrado espontáneo pero si lo hacen ante un trauma o cirugía. El KPTT está prolongado y el TP y TT son normales.

Deficiencia del factor IX (Hemofilia B).

Enfermedad ligada al sexo en forma recesiva y es la segunda coagulopatía más frecuente en animales domésticos. Los animales afectados pueden presentar hemorragias, sobretodo cavitarias (articulaciones, tórax abdomen). El KPTT está prolongado y el TP y TT son normales.

Deficiencia del factor VIII (Hemofilia A).

Enfermedad ligada al sexo en forma recesiva y es la coagulopatía más frecuente en animales domésticos. El factor VIII está unido en la circulación con el factor vW, siendo esta unión vital para la estabilización y actividad del factor VIII. El KPTT está prolongado y el TP y TT son normales.

Deficiencia del factor VII

Enfermedad autosómica recesiva, no es frecuente pero se ha diagnosticado en caninos raza Beagle, Boxer, Schnauzers miniatura, Bulldog y otros. La deficiencia no está asociada a signos clínicos y el diagnóstico es ocasional. El KPTT y el TP están prolongados y el TT es normal.

Deficiencia del factor X

Enfermedad autosómica dominante. Se ha descrito en Cocker americano y en el Jack Rusell. Pueden aparecer hemorragias anormales asociadas a cirugía o trauma. El KPTT y TP están prolongados y el TT es normal.

Deficiencia del factor II (protrombina).

Esta deficiencia es extremadamente rara.El KPTT y TP están prolongados y el TT es normal.

Deficiencia de Fibrinógeno

La afibrinogenemia congénita no se ha descrito en pequeños animales. La hipofibrinogenemia se asocia a diátesis hemorrágica grave. EL KPTT, TP, TT están prolongados.

Alteraciones cuantitativas adquiridas de los factores de la coagulación

En enfermedades hepáticas crónicas hay una disminución en la producción de factores de la coagulación que este órgano produce. Son secundarias a otras alteraciones y pueden estar causadas por:

- a) Enfermedad hepática.
- b) Inhibidores: En enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico o en la hemofilia A o B ante transfusiones reiteradas.
- c) Coagulopatía intravascular diseminada (CID): una gran variedad de situaciones como las septicemias, neoplasias, quemaduras, shock, etc. pueden provocar una sobreactivación de los mecanismos de la coagulación, fibrinolítico y antitrombótico.
- d) Enfermedad renal: en esta situación se pierde antitrombina III que es un potente inhibidor de las proteínas de la coagulación, en particular de los factores II y X.

Alteraciones cualitativas adquiridas de los factores de la coagulación

Antagonismo/Deficiencia de la vit. K

La deficiencia de vitamina K se produce normalmente por ingestión de antagonistas de la misma (warfarinas, difacinona o sus derivados, brodifacoum y bromadiolona) aunque también puede ocurrir en animales con mala absorción/mala digestión de grasas, puesto que la vit. K es liposoluble (enfermedad hepática, colestasis obstructiva, enfermedad intestinal infiltrativa). Los factores de la coagulación que son vitamina K dependientes (IX, X, VII y el II) son sintetizados en el hígado y sufren posteriormente una modificación en la carboxilación de ciertas partes de su molécula. Esta modificación es dependiente de la vit. K, de forma que en ausencia de una cantidad suficiente de vitamina, los factores de la coagulación son secretados sin una carboxilación suficiente y tienen una función inadecuada. La exposición primaria se produce por la ingesta de rodenticidas. En los felinos la exposición puede ser primaria por ingesta de roedores envenenados. En caninos pueden presentarse hematomas o sangrado en cavidades, en felinos lo más frecuente es la hemorragia pulmonar. Los animales con deficiencia de vit. K presentan prolongado el KPTT como el TP, pero la mejor prueba de laboratorio para confirmar la sospecha de la ingesta de rodenticidas, cuando el animal no tiene signos clínicos de coagulopatías, es la determinación del TP, debido a que el factor VII, dependiente de la vit. K es el de vida media más corta (4-6 h). El resto de los valores del coagulograma son normales aunque la nueva generación de rodenticidas puede causar una trombocitopenia moderada.

Coagulación Intravascular diseminada (CID)

Este es un síndrome complejo, relativamente frecuente en pequeños animales, denominado también coagulopatía de consumo, en el que una coagulación intravascular excesiva conduce a una microtrombosis en multitud de órganos y a una tendencia paradójica al sangrado, causada por la inactivación o consumo excesivo de las plaquetas y factores de la coagulación.

CAPÍTULO 6

Anemias

La anemia es una afección frecuente en caninos y felinos, que posee origen primario o secundario a otro problema de base. Esta afección se caracteriza por el descenso absoluto del número de eritrocitos, concentración de hemoglobina y valor hematocrito por debajo del límite inferior del rango de referencia para la especie. Es así que cursa con la reducción de la capacidad de la sangre para transportar oxígeno a los tejidos en un nivel aceptable para el desarrollo adecuado de la función metabólica. La anemia es una manifestación clínica de un proceso de enfermedad, por lo tanto el éxito en el tratamiento se basa en la identificación del proceso morboso que la originó.

La médula ósea, el bazo, el hígado y las linfoglándulas constituyen los órganos hematopoyéticos potenciales, que pueden llevar a cabo la eritropoyesis. En el animal adulto, la eritrogénesis se realiza en los espacios medulares, en especial del esqueleto axial y los extremos de los huesos largos. Pero cuando la demanda de eritrocitos aumenta, esta puede realizarse también en otros órganos y se la denomina hematopoyesis extramedular.

El animal normal puede producir varios millones de eritrocitos/ Kg/ día. Una población de células madres pluripotenciales mantiene la producción de megacariocitos, granulocitos, monocitos y eritrocitos. Estas células se caracterizan por la auto renovación, proliferación y diferenciación. Se reconocen al menos dos subgrupos de células progenitoras que dan origen a hematíes maduros, denominándose BFU-E (*erythroid burst forming units*) y CFU-E (*erythroid colony forming units*).

El lapso de vida de los hematíes caninos varía de 110 a 120 días. El tiempo medio de supervivencia de los eritrocitos del perro con el uso del Cr⁵¹ es de 21 a 30 días. Los eritrocitos felinos poseen tiempos de supervivencia considerablemente más cortos en comparación con las demás especies domésticas. Este fenómeno podría relacionarse con lesiones oxidativas considerando la sensibilidad de la hemoglobina del gato. El lapso de vida medido incorporando trazadores es de 76 +/- 0,9 días usando diisopropil fluorofosfato-32 (DPF³²) y de 10,7; 6 y 13,7 usando Cr⁵¹. Del 0,9 al 1,3% de los glóbulos rojos son eliminados en forma diaria de la circulación de perros y gatos adultos normales. Muchos son removidos por el sistema fagocítico mononuclear y una pequeña parte puede lisarse en la circulación.

Los eritrocitos cumplen tres funciones: transporte de oxígeno hacia los tejidos, transporte de dióxido de carbono hacia los pulmones y amortiguación de los protones. En los animales normales la presencia de hemoglobina intraeritrocitaria incrementa la capacidad transportadora de oxígeno de la sangre en más de 50 veces en comparación con en el plasma sin hematíes. El contenido de oxígeno de la sangre depende del contenido de hemoglobina, presión parcial de oxígeno y afinidad de la hemoglobina por el oxígeno.

La anemia es una de las anormalidades de laboratorio más importantes y frecuentes, encontradas en medicina veterinaria; constituyendo un estado clínico de importancia que se aborda lógicamente como un proceso secundario.

La aproximación diagnóstica se realiza a través de los hallazgos del examen físico y estudios hematológicos

y/o bioquímicos arribándose al diagnóstico definitivo mediante la investigación de la causa original. A través de la determinación del índice reticulocitario se puede identificar el tipo de anemia (regenerativo o arregenerativa), obteniéndose valiosos datos sobre la etiopatogenia de la misma. En otras ocasiones se necesita realizar estudios más complejos como por ej. extendidos medulares para poder llegar a un diagnóstico.

Fisiopatología de la anemia

Las alteraciones observadas en los cuadros de anemia, se relacionan con la oxigenación disminuida de los tejidos. Cuando ocurre hipoxia, la presión de oxígeno en el sistema microcirculatorio es insuficiente para el desarrollo del metabolismo en células alejadas de los capilares. La hipoxia tisular activa una serie de mecanismos compensadores fisiológicos útiles para mantener los niveles de oxígeno en los tejidos. Cada tetrámero de hemoglobina es capaz de fijar cuatro moléculas de oxígeno cuando es oxigenado a pleno. La fijación inicial de una molécula de oxígeno a un monómero de hemoglobina desoxigenada facilita el ligamiento adicional del gas. Al cambiar la afinidad de la hemoglobina con la oxigenación se genera una curva de disociación sigmoidea, cuando se grafica el porcentaje de saturación de la hemoglobina con el oxígeno contra la presión parcial de oxígeno (PO_2). Uno de los ajustes fisiológicos más rápidos frente a la anemia (hipoxia tisular) es la desviación de la curva de disociación de la oxihemoglobina hacia la derecha. Esta desviación reduce la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, de modo que se libera hacia los tejidos una mayor proporción del oxígeno transportado por la hemoglobina.

Dos mecanismos intervienen en la desviación de la curva de disociación de la oxihemoglobina:

1) Primero cuando sobreviene hipoxia tisular, las células hipóxicas producen mayor cantidad de ácido láctico mediante glucólisis anaerobia y como consecuencia disminuye el pH macroambiental. Como la oxihemoglobina es un ácido más fuerte que la hemoglobina, esta acidez favorece la desoxigenación. Esto se conoce como efecto Bohr.

2) En el segundo mecanismo y el más importante, los niveles de 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) aumentan en los eritrocitos. El 2,3 DPG producido se fija a la hemoglobina reducida y la estabiliza en su estado de poca afinidad por el oxígeno. Cuando la hemoglobina se mantiene en esta configuración, el oxígeno se libera con mayor facilidad hacia los tejidos. Otra respuesta compensadora rápida es la desviación del aporte sanguíneo, desde los tejidos con poca demanda de oxígeno (ej piel), hacia los de gran demanda como por ejemplo el encéfalo. Esto se logra mediante vasoconstricción selectiva.

Por otra parte se produce también, el aumento del volumen minuto cardíaco, aumentando así la oxigenación de los tejidos ya que se incrementa el aporte sanguíneo a los mismos. La respuesta compensadora más apropiada es el aumento en la producción de eritrocitos por parte de la médula ósea. La hipoxia tisular induce la liberación de eritropoyetina, que en la médula ósea ejerce su efecto estimulante sobre la célula primordial de los eritrocitos. Si bien este mecanismo es la respuesta fisiológica más apropiada frente a la anemia es también la más lenta, y la cantidad de eritrocitos tardará en aumentar entre 4 y 6 días. El signo clínico de anemia, más fácilmente observado en la clínica diaria es la palidez, que se debe primariamente a la disminución de la masa eritrocítica circulante, pero también contribuye a este fenómeno, la disminución del aporte sanguíneo a los tejidos superficiales producida por la vasoconstricción periférica.

Las anemias de instalación rápida (agudas) plantean un riesgo inmediato alto para el paciente y se asocian con signos clínicos más severos. En la anemia aguda los signos clínicos se relacionan con una hipoxia tisular súbita y /o reducción repentina en la masa eritrocítica. Los signos más comúnmente observados comprenden colapso, hiperventilación, shock hipovolémico y evidencias de cese agudo de la función renal.

En la anemia de instalación gradual, los signos clínicos aumentan de intensidad lentamente. Es por esto que el propietario convive con los cambios paulatinos de su animal y el hematocrito puede bajar hasta el 10 % antes que el dueño empiece a sospechar un problema de enfermedad. Muchas veces el signo de presentación es letargo y taquicardia. En ocasiones el animal aparenta ser normal hasta que se lo exige o sufre un estrés, entonces aparece taquipnea y dificultad respiratoria.

Diagnóstico y diferenciación de las causas de anemia

Una aproximación sistemática a la anemia debe incluir anamnesis detallada, examen físico completo, hemograma, recuento de reticulocitos, determinación de proteínas plasmáticas y examen del frotis sanguíneo. El primer paso es determinar si la anemia es regenerativa o arregenerativa.

La médula responde a la anemia aumentando la producción de eritrocitos. La regeneración se denota por la presencia de policromasia, reticulocitosis, macrocitosis e hipocromía. La regeneración sugiere una causa extramedular de anemia, bien sea por pérdida de sangre (hemorragia) o bien destrucción de eritrocitos (hemólisis). Para detectar la regeneración, no es necesario realizar un estudio de la médula ósea, pero si se hace, observaremos una hiperplasia eritropoyética. La metodología más útil actualmente en la clasificación de la anemia es determinar si existe o no evidencia de respuesta medular en la sangre, esto comprende determinar si existe incremento en la cantidad absoluta de reticulocitos. El aumento de policromasia se presenta en este tipo de anemias porque muchos reticulocitos se tiñen de rojo azulado con los colorantes sanguíneos de rutina. Por el contrario los gatos con anemias leves pueden no liberar reticulocitos agregados desde la médula. Como éstos no contienen cantidades suficientes de ribosomas para impartir una coloración azulada al citoplasma, las anemias regenerativas leves felinas pueden carecer de policromasia en los extendidos sanguíneos coloreados.

El aumento de la anisocitosis se debe a la presencia de grandes cantidades de eritrocitos inmaduros, aunque también puede ser marcada en anemias arregenerativas.

Los cuerpos de Howell-Jolly a menudo se presentan en anemias regenerativas, son remanentes nucleares que aparecen tanto en eritropoyesis acelerada o tras una esplenectomía .

La presencia de reticulocitosis compensatoria indica que la anemia se origina ya sea por hemorragia o por un incremento en la destrucción de los eritrocitos. Varios factores deben ser recordados cuando se interpreta la magnitud de la respuesta reticulocitaria. Los animales con un hematocrito reducido deberían tener porcentajes de reticulocitos más elevados. El primer motivo es porque cuando la anemia es más marcada, provoca un mayor estímulo para incrementar la producción de eritrocitos y, el segundo, los animales con anemias más intensas tienen recuentos inferiores de eritrocitos.

Dado que los recuentos de reticulocitos son medidos como un porcentaje de los eritrocitos totales, el porcentaje reticulocitario (PR) será más elevado en un animal anémico que en otro normal, incluso, si es similar

la cantidad absoluta de reticulocitos circulantes. En consecuencia, se recomendó determinar el recuento de reticulocitos absolutos o que el valor de PR sea corregido por el hematocrito en relación con el valor de referencia promedio para la especie obteniéndose el porcentaje de reticulocitos corregido (PRC). Por último en la anemia pronunciada, los reticulocitos pueden ser liberados desde la médula con menor desarrollo que lo normal, estos reticulocitos de “estrés” voluminosos en apariencia se mantienen en la circulación más tiempo que otros reticulocitos antes que la maduración se complete. Por lo tanto el PRC es ajustado nuevamente dividiéndolo por el lapso de vida probable en días en circulación denominándose índice reticulocitario (IR). Así se expresa en el canino para diferenciar las anemias regenerativas ($IR > 2$) de las anemias arregenerativas ($IR < 2$). En el caso de los felinos es muy difícil determinar el lapso de vida de los reticulocitos es por ello que en esta especie se expresa como PRC.

Clasificación

1) La clasificación de mayor aplicación fisiopatológica es aquella que divide a las anemias de acuerdo al funcionamiento de la médula ósea a través del recuento de reticulocitos; como ya se mencionó, entonces se las clasifica en:

- Anemia Regenerativa.

Es aquella en que la médula ósea responde debidamente con una mayor producción de eritrocitos. Este tipo de anemia son las anemias por pérdida de sangre (hemorragias) o por destrucción de eritrocitos (hemolíticas). Se produce un aumento de la eritropoyesis con un incremento en el número de células jóvenes (reticulocitos). Estos aparecen en la circulación a los 2- 4 días de producirse la pérdida de sangre o hemólisis, con un pico de producción entre los 4 a 7 días.

- Anemia No Regenerativa o Arregenerativa

Las anemias arregenerativas se caracterizan por una disminución o deficiencia en la producción de glóbulos rojos por la médula ósea por lo tanto el número de reticulocitos circulantes es menor.

2) El estudio de los índices hematimétricos nos permite también caracterizar a las anemias.

El volumen celular medio (VCM) es el valor hematocrito x 10 / número de eritrocitos se expresa en micras cúbicas y nos informa sobre el tamaño del eritrocito.

Así cuando el VCM está elevado hablamos de macrocitosis (anemia macrocítica) lo cual nos indica la presencia de eritrocitos jóvenes en circulación. Esto puede ir acompañado de policromasia y reticulocitosis cuando se trata de una regeneración medular adecuada. La excepción en el gato es la anemia asociada al virus de la leucemia felina (ViLeF) donde el VCM está elevado y la anemia no es regenerativa. La disminución del VCM nos estaría indicando microcitosis (anemia microcítica) y la mayoría de las veces es por deficiencia de hierro.

La concentración corpuscular media de (HCM) es el valor de la hemoglobina x 100/ hematocrito. Es el índice eritrocitario más seguro, porque se calcula a partir de los dos valores más fiables del hemograma realizado en forma manual.

Los descensos de la concentración corpuscular media de hemoglobina CHCM son sinónimos de hipocromía y están frecuentemente asociados a una deficiencia de hierro por pérdida crónica de sangre.

Si bien tanto el VCM como la CHCM son índices empleados en la clasificación morfológica de las anemias se debe tener en cuenta que debe existir una gran cantidad de eritrocitos macrocíticos, microcíticos o hipocrómicos en circulación para que estos índices se modifiquen, por lo que éstos, no son suficientemente sensibles para detectar cambios moderados o iniciales en el desarrollo de una anemia.

El hematocrito (VCA) es el parámetro hematológico más fácil de utilizar para detectar una anemia. Siempre se debe interpretar su valor teniendo en cuenta el estado de hidratación del animal y la presencia de contracción esplénica. Es por ello que conviene medir las proteínas plasmáticas con un refractómetro, cuando solo se realiza un hemograma, sin determinaciones bioquímicas.

En caninos: un VCA de 30-36 % indica anemia leve, un VCA de 18-29 % indica anemia moderada y un VCA < 18 % indica anemia intensa.

3) Otro criterio, es de acuerdo al Ancho de distribución eritrocitaria (RDW).

En las últimas décadas, la utilización de contadores hematológicos permite obtener gráficas de distribución de los elementos celulares contados, conocidos como histogramas de distribución, de acuerdo al número y tamaño de las distintas células (glóbulos rojos, blancos y plaquetas). En estas gráficas se representan la distribución de cada tipo celular en función de su tamaño. Esta curva de distribución de la población celular es la base para la construcción del ancho de distribución eritrocitaria también denominado RDW por *red cell distribution width* o índice de anisocitosis. El RDW es un parámetro exclusivo del hemograma electrónico y representa el coeficiente de variación, expresado en porcentaje del tamaño de los eritrocitos y con menor frecuencia como desvío estándar (Buttarelo, 2016). El RDW se calcula a partir de la distribución de volúmenes de glóbulos rojos medidos por contadores celulares utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{RDW} = \text{Desviación estándar del volumen de glóbulos rojos} / \text{VCM} \times 100$$

Con poblaciones de glóbulos rojos pequeños y grandes el histograma es más ancho por lo que el valor RDW es más alto. Al contrario, con un tamaño de glóbulos rojos homogéneos, el histograma es más estrecho, por lo que el RDW es más bajo. El intervalo de referencia para RDW en caninos sanos se encuentra en 15,6 % (Neiger y col., 2002).

En medicina humana, el RDW es necesario para la clasificación morfológica de las anemias de acuerdo con la clasificación de Bessman. Esta clasificación se basa tanto en el VCM como en el RDW y contempla dos poblaciones de eritrocitos, la homogénea (con RDW normal) y la heterogénea (con RDW incrementado). En la primera se incluye anemia hipoproliferativa, aplasia medular y heterocigosidad de talasemia; mientras que la última incluye anemias nutricionales (deficiencia de hierro, cobalamina y ácido fólico) y anemia sideroblástica. En caninos, existen escasos estudios de estos parámetros en lo que respecta a su potencial para diferenciar entre anemias regenerativas y no regenerativas como también su mayor sensibilidad diagnóstica en casos de anemia en comparación con el VCM.

La magnitud de la anemia por lo usual se correlaciona con su patogenia. Cuando se evalúa el VCM, el plasma

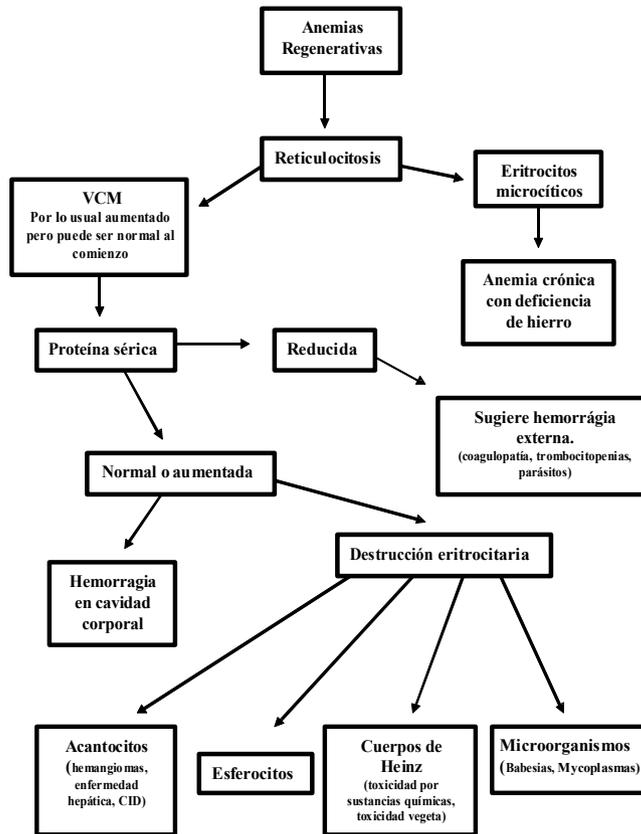
debe examinarse por la evidencia de ictericia o hemólisis. En cuanto a la clasificación de anemias regenerativas o arregenerativas hay discrepancias en la bibliografía por la consideración del porcentaje del índice reticulocitario en caninos y el porcentaje reticulocitario en felinos, eso podría deberse a partir de cuándo se realizó el conteo de reticulocitos, si fue en una anemia leve, moderada, o intensa. Cuanto más grave es la anemia el índice o porcentaje de reticulocitos va a ser mayor (1 o 2 %) para considerar la diferenciación entre ambas (Tabla 9).

Tabla 9 de Clasificación de anemias

	Anemia	
	Regenerativa	No regenerativa
Índice reticulocitario (PRC)	>2	<2

Clasificación de las anemias regenerativas

Algoritmo de Anemias Regenerativas



Anemias hemorrágicas

La pérdida de sangre se puede producir en forma aguda debido a traumas; cirugías; deficiencias en la coagulación ya sea por deficiencia de vitamina K, intoxicación con raticidas, coagulación intravascular diseminada o deficiencias hereditarias de factores coagulantes; o bien en forma crónica debido a parásitos; hemorragias gastrointestinales o cavitarias; neoplasias gástricas incluyendo carcinomas, leiomiomas, carcinomas de células de transición de la vejiga urinaria y hemangiosarcoma con sangrado dentro de cavidades corporales y tejidos.

En la pérdida aguda de sangre solo se puede valorar el grado de anemia transcurridas 12-24 horas (es cuando hay pase de líquido extravascular a la circulación), ya que al principio se pierden igual cantidad de elementos formes y plasma, también se debe considerar la que contracción esplénica libera en forma compensatoria, importantes cantidades de eritrocitos a la circulación incrementando de forma temporal el hematocrito.

Transcurridas 48-72 horas aparecen signos de regeneración eritrocitaria en el frotis sanguíneo teñido con May-Grundwal-Giemsa como policromasia, macrocitosis e hipocromía. Si el frotis es teñido con coloración supravital (Azul brillante de cresil) se observa un aumento del IR (caninos) o PRC (felinos). Estos signos alcanzan el máximo al cabo de una semana de haberse producido la hemorragia.

En hemorragias externas la volemia total está reducida, pero el hematocrito y la concentración de proteínas en plasma son normales inmediatamente después de una hemorragia aguda sustancial, porque existe una pérdida balanceada de eritrocitos y plasma. Después de varias horas el hematocrito y las proteínas plasmáticas disminuyen porque el organismo moviliza el líquido desde los espacios extravasculares hacia la circulación intentando estabilizar la volemia. Si no hay hemorragia adicional la concentración plasmática de proteínas se normalizará dentro de los 5 a 7 días. En consecuencia la concentración plasmática de proteínas reducida con anemia sugiere la existencia de un hemorragia reciente o activa.

En las hemorragias crónicas, el valor hematocrito puede alcanzar un valor bajo antes de que el animal presente síntomas clínicos, puesto que el organismo tiene tiempo de adaptarse a la situación. Aparece también una respuesta medular regenerativa aunque menos intensa que en las pérdidas agudas. Debido a la cronicidad, las reservas de hierro pueden acabarse y generar una anemia por carencia de hierro.

Anemias hemolíticas

Pueden estar producidas por microorganismos (*Mycoplasma haemofelis*, *M. canis*, *Cytauxzoon felis*, *Babesia canis* y *B. gibsoni*), por daño oxidativo (cuerpos de Heinz), daños inmunomediados o hemólisis microangiopática .

Todas las formas de hemólisis causan una disminución de la vida media eritrocitaria y la anemia se desarrolla cuando la destrucción eritrocitaria supera a la demanda. Normalmente, la regeneración eritrocitaria (reticulocitosis) es más pronunciada en la hemólisis respecto a la hemorragia (la hemólisis proporciona más hierro para la producción de eritrocitos que la pérdida de sangre total) .

Las anemias hemolíticas pueden ser intra o extravasculares. Si bien la mayoría de las anemias son el resultado de una combinación de ambas, siempre hay uno que predomina siendo interesante conocer el lugar donde se produce la destrucción celular, puesto que esto orienta hacia la causa de la hemólisis.

En la hemólisis intravascular, los eritrocitos son destruidos dentro de la circulación, liberando hemoglobina al plasma donde es eliminado bien por el hígado o bien es excretada por los riñones. Hay signos de regeneración que se observan al cabo de 2 a 3 días, hemoglobinemia, por la coloración rojiza del plasma y un aumento de la concentración media de la hemoglobina corpuscular, hemoglobinuria al cabo de 12 a 24 horas, cuando la cantidad de hemoglobina libre supera la haptoglobina disponible y se excede la capacidad de reabsorción tubular renal; hiperbilirrubinemia, si se excede la capacidad del hígado de eliminar la hemoglobina del plasma y excretarla por bilis.

Los disturbios donde a veces ocurre una hemólisis intravascular significativa incluyen anemias inmunomediadas en las que se involucran IgM, babesiosis, daño oxidativo y alteraciones microangiopáticas. En la mayoría estas condiciones, no obstante, la destrucción de los glóbulos rojos toma lugar primariamente mediante el incremento de la fagocitosis.

Daño oxidativo

En este caso la hemólisis se produce por una desnaturalización de la molécula de hemoglobina, que se produce por un fallo oxidativo en los eritrocitos, debido al desequilibrio entre el estrés oxidativo y los mecanismos antioxidativos (los eritrocitos se protegen de la exposición de los oxidantes diarios a través del glutatión reducido y de la metahemoglobina reductasa, que mantiene el hierro en un estado reducido, evitando la acumulación de la metahemoglobina).

Esto produce la precipitación de la hemoglobina en forma de acúmulos denominados cuerpos de Heinz. El gato tiene la característica de tener un porcentaje relativamente alto en condiciones de normalidad (> 5%), esto obedece a que su molécula de hemoglobina tiene de 8 a 10 grupos sulfhídricos, en lugar de 4 como en el resto de las especies.

Las causas de formación de cuerpos de Heinz pueden ser farmacológicas, alimentarias (azul de metileno, vitamina K en altas dosis), cebolla, Zinc, benzocaína, lidocaína, propilenglicol o bien estar asociada a otras enfermedades como ocurre en el gato (hipofosfatemia, cetoacidosis, hipertiroidismo, linfoma).

Alteraciones microangiopáticas

Se producen como consecuencia de una coagulación intravascular diseminada, neoplasias vasculares, vasculitis o filarias. Los eritrocitos son escindidos debido a los bordes de fibrina depositada en los pequeños vasos. En las extensiones de sangre y ante la sospecha de ésta hay que buscar la presencia de fragmentocitos.

Anemia hemolítica inmunomediada

Se produce por la fijación de anticuerpos y/o complemento a los antígenos de la membrana eritrocitaria. La eliminación de una parte de la membrana del eritrocito causa la formación de esferocitos, lo que disminuye la vida media circulante de éstas células. Se genera aglutinación que puede ser macro o microscópica por la unión de la Ig fijadas a la superficie eritrocitaria.

Se presenta con más frecuencia en perros adultos y se caracteriza clínicamente por la presencia de una anemia de aparición aguda, debilidad, hemoglobinuria e ictericia.

Estas se pueden producir por:

- Medicamentos (cefalosporinas, trimetoprimas/sulfas)
- Anticuerpos producidos ante infecciones, que reaccionan de forma cruzada con ciertos antígenos eritrocitarios normales.
- Anticuerpos dirigidos frente a los antígenos propios, incluyendo la de los eritrocitos tras una estimulación inmune no específica.
- Anticuerpos frente a transfusiones incompatibles. En las anemias hemolíticas extravasculares, los eritrocitos dañados son secuestrados a nivel de las células del sistema mononuclear fagocitario (SMF) del hígado y bazo, donde, en ocasiones éstas células eliminan parcialmente la membrana del eritrocito (fragmentos) y otras veces causan la destrucción total celular o acortan su vida media .

No se evidencia hemoglobinemia ni hemoglobinuria, hiperbilirrubinemia solo aparece cuando la magnitud de la hemólisis es suficiente como para exceder la capacidad del hígado de captar, conjugar y excretar la hemoglobina por el hígado. Puede aparecer esplenomegalia por la mayor actividad de los macrófagos y también por una hematopoyesis extramedular

Se asocia con:

- Problemas inmunomediados bien por Ac o por C3 .
- Agentes infecciosos (Haemoplasmas)
- Defectos intrínsecos de los eritrocitos.

Mycoplasmas hemotróficos:

Son microorganismos que aparecen en forma de cocos, bacilos o formas de “donut” en la superficie del eritrocito. En ocasiones en que la sangre ha sido almacenada, refrigerada o expuesta mucho tiempo al anticoagulante puede causar el desprendimiento de éste microorganismo al realizar el frotis sanguíneo, lo cual puede interpretarse como ausencia del mismo, pero hay que tomar en consideración que la infección ocurre intermitentemente y que frecuentemente está ausente en gatos con anemia aguda . *Mycoplasma haemofelis* puede ser causante de anemia hemolítica primaria o bien ser un agente oportunista que existe en gatos sanos y produce la enfermedad cuando el gato se estresa por otras enfermedades.

En infecciones experimentales la anemia se desarrolla en el transcurso de varias semanas. La infección ocurre en episodios cíclicos durante los cuales los eritrocitos infectados incrementan gradualmente por días para luego desaparecer rápidamente en el transcurso de varias horas. La repentina ausencia de la infección detectable es atribuida a la rápida eliminación de los eritrocitos por los macrófagos en el bazo, hígado y médula, lo cual contribuye a la anemia progresiva. Durante los períodos de infección mínima o ausente, el hematocrito puede incrementar transitoriamente, presumiblemente debido a la liberación esplénica de los eritrocitos secuestrados después de la remoción de los organismos por los macrófagos.

Es también interesante la posible interrelación de la *Mycoplasma haemofelis* y el virus de leucemia felina. En el canino *Mycoplasma canis* tan solo causa problemas cuando el animal está esplenectomizado y en perros que están recibiendo tratamientos con drogas inmunosupresoras. En estas circunstancias los perros son susceptibles a una infección latente preexistente o a una infección transmitida por una infección sanguínea. El *Mycoplasma canis* no es patógena para perros que no estén esplenectomizados aún cuando han sido inoculados experimentalmente. La infección es persistente durante la fase aguda y usualmente es detectable en los frotis periféricos. En ellos se observan varios microorganismos dentro de cada eritrocito que pueden ser cocos o bacilos basofílicos (0,5 μm de diámetro), que forman cadenas que se pueden ramificar y formar acúmulos sobre la superficie del eritrocito.

Babesiosis canina

La *Babesia canis* y la *Babesia gibsoni* causan anemia hemolítica y trombocitopenia en perros y cánidos salvajes. La anemia se puede producir tanto por mecanismos extravasculares e intravasculares. La *B. canis* es grande con piroplasmas (3 x 5 μm) que aparece como una inclusión oval a piriforme, en pares o cuádruples. En las tinciones de Romanowsky el piroplasma se observa con citoplasma levemente basofílico y un núcleo excéntrico. Los eritrocitos infectados tienden a concentrarse cerca del borde en forma de pluma del frotis y en los eritrocitos que se encuentran justo debajo de la capa flogística en el hematocrito. La sangre capilar colectada de la piel de la oreja contiene un porcentaje mayor de eritrocitos infectados que la sangre de muestras de sangre venosa. *B. gibsoni* es mucho más pequeña (1 x 3 μm), con piroplasmas de apariencia redonda a piriforme que ocurren simples o en parejas (rara vez en forma tetrámero) en los eritrocitos; usualmente infecta a un porcentaje más bajo de eritrocitos que la otra especie, además que solo está presente en Asia, Egipto y EE.UU.

Babesiosis felina

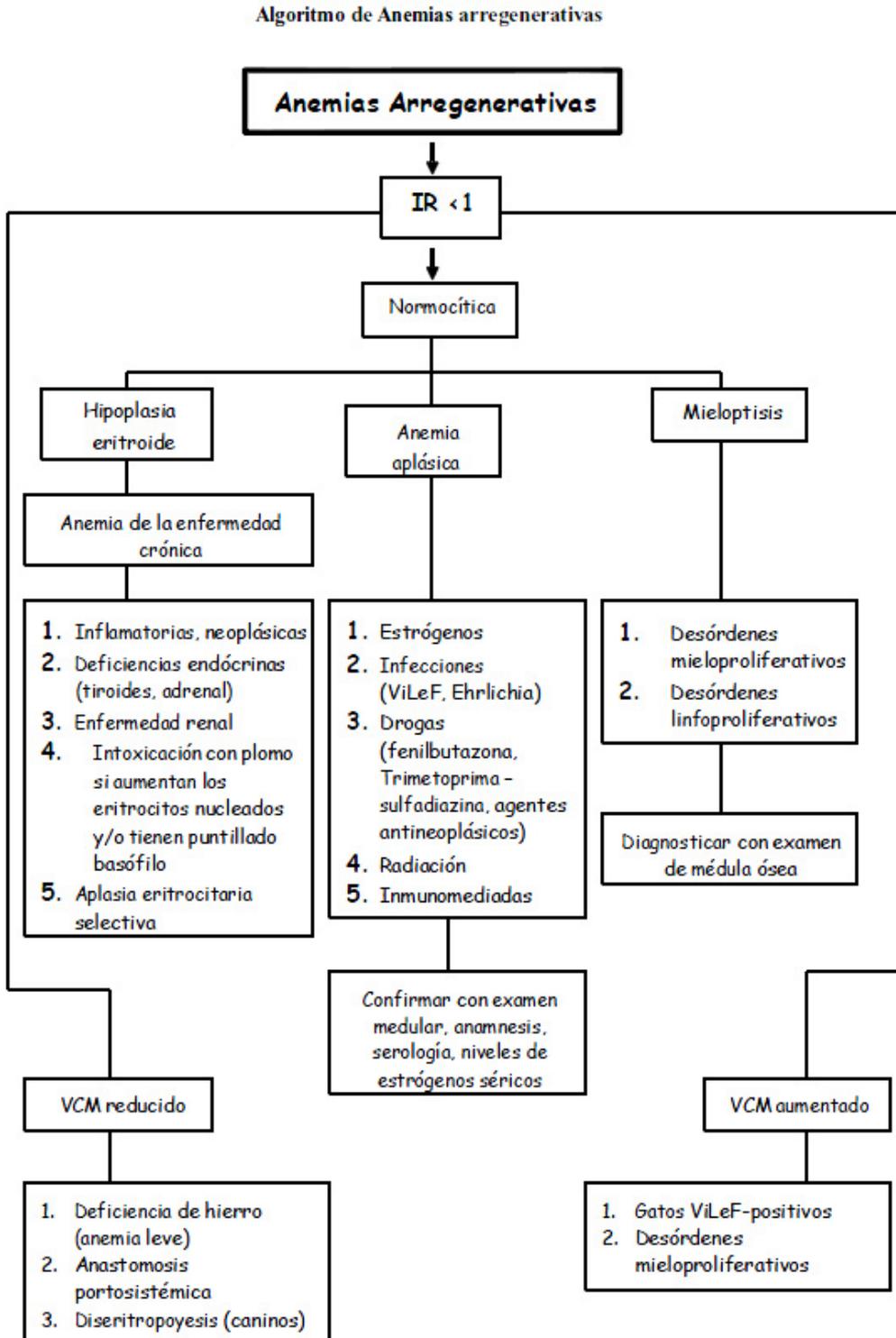
La *Babesia cati*, *B. felis*, *B. herpailuri*, *B. pantherae* afectan a los gatos domésticos y félidos salvajes, son pequeñas (1 x 2,5 μm) que aparecen tanto en formas simples como piriformes. La hemoglobinuria y la ictericia son poco comunes. Es endémica para Sur América, África e India.

Cytauxzoon felis

Es un protozoo sanguíneo con una etapa extraeritrocítica e intraeritrocítica, produce una anemia hemolítica fatal en el gato doméstico. En los frotis sanguíneos se observan uno a dos piroplasmas (1 x 2 μm) en menos del 5% de los eritrocitos. Existen dos formas de anillos, los anillos redondos con núcleo excéntrico y otro de forma oblonga con núcleo bipolar. Produce una anemia no regenerativa, trombocitopenia, neutropenia con desvío a la izquierda degenerativo y se observa ictericia en los gatos antes de la muerte.

Se pueden observar macrófagos que contienen esquizontes y merozoitos en frotis sanguíneo, en médula, bazo, hígado y nódulos linfáticos.

Clasificación de anemias arregenerativas



En las anemias no regenerativas existe una respuesta anormal de la médula ósea que no puede mantener la eritropoyesis. El fallo medular puede ser primario o secundario a causas extramedulares y quedar limitado a la serie eritroide o bien afectar a otras líneas celulares.

Las anemias arregenerativas pueden producirse por afecciones medulares o extramedulares, como la hipoproliferación eritroide, enfermedad inflamatoria crónica y enfermedad renal crónica. Aunque tradicionalmente las anemias por deficiencia de hierro se clasificaron como arregenerativas, muchos caninos con hemorragia crónica que lleva a deficiencia de hierro desarrollan un grado leve (a moderado) de regeneración.

Con la excepción de la anemia de la enfermedad crónica (AEC), las anemias arregenerativas no son de presentación clínica tan frecuente como las regenerativas en los caninos, mientras que lo contrario ocurre en los felinos.

Se reconocen cinco formas de anemia arregenerativa en gatos y perros aunque, como se mencionara con anterioridad, la anemia por deficiencia de hierro (ADH) puede ser leve a moderadamente regenerativa. La mayoría de las anemias arregenerativas en gatos y perros son de carácter crónico, permitiendo la adaptación fisiológica a la reducción de la masa eritrocitaria. Estos tipos de anemias pueden detectarse de manera incidental durante la evaluación rutinaria de un paciente que es asintomático para su propietario ya que en muchos casos la anemia es leve y la sintomatología escasa.

En general los eritrocitos en los perros y gatos con anemias arregenerativas son normocíticos y normocrómicos, aunque suelen ser macrocíticos y normocrómicos en los gatos con anemias hipoproliferativas inducidas por Virus de la Leucemia Felina (ViLeF) o Virus de la Inmunodeficiencia Felina (VIF) y microcíticos e hipocrómicos en los gatos y perros con ADH.

La evaluación clínica del perro o gato con anemia arregenerativa difiere de aquella del paciente con las formas regenerativas, porque la ausencia de regeneración suele reflejar las anormalidades primarias o secundarias de la médula ósea (anemias hipoproliferativas, AEC). En consecuencia después que se descartan las causas extramedulares, está indicada la aspiración o biopsia medular.

Anemia de las enfermedades crónicas (AEC)

Constituye la forma más corriente de anemia arregenerativa en los perros. Durante la inflamación los macrófagos liberan interleucina 1 que inicia diversos procesos entre los que se encuentra el secuestro de hierro por parte de los macrófagos, de manera que es menos accesible, disminuye la sideremia y restringe la disponibilidad de hierro para los rubricitos en desarrollo. En el laboratorio se observa disminución del hierro sérico, disminución total de la capacidad de conjugación del hierro (TIBC), aumento del hierro en los macrófagos medulares y una anemia de leve a moderada .

Este tipo de anemia es secundaria a una variedad de condiciones inflamatorias crónicas, degenerativas o neoplásicas y debido a su magnitud, no suele cursar con signos clínicos. Los eritrocitos son normocíticos y normocrómicos y el hemograma puede reflejar el proceso primario (leucocitosis, neutrofilia, monocitosis, hiperproteinemia resultante de una gammapatía policlonal). Sin embargo algunos gatos presentan índices hematemétricos microcíticos-hipocrómicos.

En muchos gatos con AIC, los valores del VCA varían de altos a medios, mientras que en los perros lo hacen de medios a bajos, la concentración sérica de hierro y capacidad ligadora total de éste por lo general están disminuidas, al igual que la saturación de Hb.

La AIC por lo usual se excluye en gatos y perros con VCA menores del 20 %. La diferencia entre AEC y ADH no es tan marcada como en humanos, por eso para diferenciarlas se evalúan los depósitos de hierro medulares mediante la coloración con azul de Prusia.

Anemia de la enfermedad renal (AER)

En esta entidad el desarrollo de la anemia es multifactorial como consecuencia de la disminución en la producción de eritropoyetina (por disminuir la masa funcional renal) y una inhibición de esta hormona circulante, ocurriendo entonces una eritropoyesis inefectiva así como un acortamiento en la vida media de los eritrocitos.

Los VCA en los perros y gatos con AER suelen estar en el rango de 20-30 %, aunque son comunes los valores por debajo del 20 %.

Anemia por deficiencias endócrinas:

Algunas hormonas, probablemente actúan incrementando el número de colonias eritroides formadas y modulando la fracción de células progenitoras eritroides que ingresarán a la diferenciación terminal. Ciertas afecciones como hipopituitarismo, hipoadrenocorticismo e hipotiroidismo pueden causar anemia arregenerativa leve.

Las hormonas tiroideas poseen un efecto directo sobre los precursores eritroides medulares y estimulan la producción de eritropoyetina.

Anemias hipoproliferativas

Aplasia-hipoplasia de la médula ósea. Esta alteración se caracteriza por la aplasia o hipoplasia de todas las líneas celulares medulares (aplasia-hipoplasia medular o pancitopenia aplásica) o de los precursores eritroides (aplasia-hipoplasia eritrocitaria). El diagnóstico se confirma mediante el examen hisopatológico de la médula ósea.

Aplasia eritrocitaria pura (AEP): los perros y gatos presentan un VCA menor al 15 % y por lo tanto son sintomáticos. Se observa macrocitosis en ausencia de reticulocitos, esto es un hallazgo constante en los gatos con AEP relacionada con VileF o VIF.

El gran volumen eritrocitario en tales casos se atribuye a la displasia eritroide o diseritropoyesis inducida por el virus. En ocasiones los perros con AEP tienen esferocitos circulantes, sugiriendo una base inmune para la anemia. La reacción de Coombs directa también es positiva en algunos de estos casos y la anemia responde a la terapia inmunosupresora. Los gatos y perros con aplasia-hipoplasia de la médula ósea son pancitopénicos.

Entre las posibles causas también podemos mencionar, estrógenos ya sea endógenos (tumor de células de Sertoli) o exógenos. Drogas antiinflamatorias no esteroides pueden causar aplasia medular.

Anemia por deficiencia de Hierro (ADH)

La ADH suele clasificarse como arregenerativa, aun cuando los perros por lo regular exhiben regeneración leve a moderada. Esta forma de anemia está bien caracterizada en los perros con hemorragia crónica. En los gatos, la ADH sólo está bien caracterizada en los gatitos lactantes, en los cuales la suplementación de hierro lleva a la rápida resolución de las anormalidades clínicas y hematológicas. La ADH es rara en los gatos adultos.

La hemorragia crónica que lleva a la depleción de hierro es común en los perros con sangrado gastrointestinal causado por ulceraciones gástricas, neoplasias o endoparásitos (por ej. anquilostomiasis). Las anemias por hemorragia comienzan como anemias muy regeneativas pero se transforman en arregenerativas cuando se produce déficit de hierro.

La mayoría de los frotis sanguíneos de caninos con ADH presentan eritrocitos microcíticos-hipocrómicos y reticulocitosis leve, con trombocitosis. Cuando se utilizan contadores celulares obtenemos otro dato que es el ancho de distribución eritrocitaria (RDW) que en este caso estaría elevado. Las concentraciones séricas de hierro TIBC (transferrina) están reducidas. Se presenta también el porcentaje de saturación reducido en extremo (por lo usual menor del 10 %), baja concentración sérica de ferritina y depósitos de hierro disminuidos en la médula ósea. La médula ósea es hipercelular, con un número desproporcionado de metarrubricitos y rubricitos, debido a que el nivel crítico de hemoglobina necesario para detener la división celular no se alcanza y aparecen divisiones extras.

La presencia de eritrocitos fragmentados y formas eritrocíticas anormales (poiquilocitosis) son hallazgo corriente en los frotis de pacientes con este tipo de anemia.

CAPÍTULO 7

Estudio de médula ósea

La evaluación de la punción medular se indica ante trastornos hematopoyéticos. Sin embargo, todo depende de una apropiada técnica de extracción medular y manejo de la misma. Por lo tanto la evaluación de la médula ósea siempre debe ir precedida por un análisis de sangre completo. La evaluación e interpretación de la citología medular en conjunto con el hemograma, permitirá llervarnos a emitir un diagnóstico y pronóstico.

Se indica ante las siguientes situaciones:

- Anemia arregenerativa.
- Leucopenia y trombocitopenia.
- Policitemia, leucocitosis o trombocitosis inexplicables.
- Neoplasia hematopoyética.
- Hiperproteinemias con gammapatia monoclonal o policlonal (por ejemplo como en los casos de mielomas, linfomas, leishmaniasis y ehrlichiosis).
- Hipercalcemia inexplicable.
- Como estudio complementario para determinar los diferentes estadios de linfoma y evaluar el pronóstico y tratamiento.
- Determinación de depósitos de hierro sérico, en casos de hipoferremia.
- Determinación de agentes infecciosos (como la leishmania).

Nota: debería evitarse la punción de médula ósea ante una Coagulación Intravascular Diseminada (CID) o falla hepática severa.

Toma de muestra de médula ósea

Se conocen dos técnicas para la obtención de medula ósea:

- Aspiración.
- Biopsia.

Las diferencias entre una y otra son el costo, la facilidad de obtención como ocurre con la aspiración en la cual apreciamos la morfología celular en forma individual, pudiéndose determinar la relación mieloide/eritroide y la rapidez en su posterior examen.

En el caso de la biopsia, se aprecia la estructura de la médula ósea (MO) en conjunto, se la indica cuando la médula está hipocelular (sospecha de hipoplasia o aplasia) o mielofibrosis, lleva más tiempo de procesamiento y su observación es hecha por un patólogo.

En este texto solo se hará referencia a la aspiración de médula.

Materiales para la extracción

- Antiséptico.
- Anestésico local.
- Agujas 18G 1" (25/12) (Foto 53).
- Agujas de aspiración/biopsia medular (tipos Jamshidi, Jamshidi-Illinois o Rosenthal) (Foto 54).
- Jeringas descartables de 5-10 ml para la aspiración.
- Portaobjetos.

Opcionalmente, para evitar la coagulación de la muestra aspirada se añade una gota de EDTA a la jeringa de aspiración.

Otra forma de prepararla es adicionar 10 ml de solución fisiológica a un tubo estéril que contenga 0,25-0,3 ml de EDTA quedando una solución al 2,5-3 %. Se toma de esta solución 0,5 ml en una jeringa (Foto 54).

Las zonas anatómicas indicadas para realizar la toma de muestra son: cresta ilíaca y epífisis proximales del fémur y húmero para aspiración, aunque también permiten la biopsia. En el esternón y costillas se realiza la aspiración de la médula y la cantidad que se obtiene de muestra es menor.

Técnica

Colocar al animal en decúbito lateral cuando se elija punción esternal, la epífisis proximal del húmero o del fémur o en decúbito lateral o ventral cuando se va a obtener de la cresta iliaca.

Preparar asépticamente la zona mediante depilación y antisepsia de un área de aproximadamente 6 cm de diámetro.

Infiltrar el tejido subcutáneo, músculos adyacentes y periostio del lugar donde se va a insertar la aguja con anestésico local (lidocaína al 2 % de 0,5 -1 ml). Luego de infiltrar volver a realizar la antisepsia de la zona.

Normalmente no es necesario sedar al animal, excepto en el felino que siempre se hace bajo una ligera sedación.

Sitio de punción

- a) en la epífisis proximal de húmero:



Foto 53. Aguja para punción de médula en caninos y felinos 18G1" (25/12)



Foto 54. Agujas de punción medular (Jamshidi/Illinois)

Estabilizar el húmero sujetando el codo y flexionando el brazo hasta palpar un área aplanada entre el tubérculo mayor y la cabeza del húmero.

Insertar la aguja hasta hacer contacto con el hueso y realizar movimientos de rotación a derecha e izquierda dirigiendo la aguja hacia el codo y manteniéndola siempre paralela a la caña del húmero. La aguja se introduce de 2 a 4 cm según la talla del animal. Para asegurar su correcta colocación hay que flexionar y extender la articulación escapulo-humeral y la aguja debe seguir los movimientos del húmero

b) En la cresta ilíaca.

Este sitio se utiliza especialmente en animales adultos delgados, en cachorros y en felinos.

Fijar el ala del ilion sujetando sus vértices dorsal y ventral. Palpar la porción más ancha y dorsal de la cresta ilíaca e introducir la aguja en dirección perpendicular a la misma, mediante movimientos de rotación a derecha e izquierda. Algunos autores recomiendan la introducción de la aguja en dirección paralela al eje longitudinal del ala del ilion.

c) En las costillas y el manubrio del esternón

Es una de las más utilizadas aunque en pacientes obesos o de talla muy pequeña presenta una dificultad mayor. Se realiza en la unión condro costal, cerca del 1/3 medio del esternón. La extracción realizada en el fémur no se considera de primera opción por lo tanto no será descripta.

Procedimiento

Dependiendo del sitio anatómico elegido, la maniobra se hace bajo una sedación. Una vez que se introduce la aguja hasta contactar con la superficie ósea, se avanza con ésta en forma de tirabuzón. En este caso se usa la aguja medular, en perros se prefiere una aguja calibre 18 Illinois o Rosenthal, una vez que llegamos a la médula se retira el estilete y se acopla una jeringa, muchas veces se recomienda embeber la jeringa y la aguja medular con EDTA antes del procedimiento. Nunca emplear heparina debido a que produce alteración tanto en la morfología celular como en la coloración.

Cuando aparezca muestra en la jeringa debe eliminarse el vacío pues sucesivas aspiraciones pueden provocar hemodilución de la muestra por ruptura de capilares medulares.

La muestra suele aparecer lentamente en la jeringa, si lo hace rápidamente es probable que esté hemodiluida. Es suficiente obtener 1-1,5 ml de aspirado. Si la aguja está bien colocada en la cavidad medular, el animal suele mostrar un ligero dolor al realizar la aspiración apesar de la sedación.

En caso de no obtener muestra al realizar el vacío con la jeringa en repetidas ocasiones, lo más aconsejable es volver a colocar el fiador estilete debido a que puede haberse obstruido la aguja con una espícula de hueso. Entonces se debe retirar la aguja e introducirla nuevamente, asegurándose del correcto funcionamiento.

También, teniendo en cuenta la practicidad y el menor costo, se realiza de rutina en caninos, en el medio del manubrio del esternón con anestesia local y aguja 25/12; en cambio en felinos en la cresta ilíaca.

Procesamiento de las muestras

La muestra de médula ósea obtenida por aspiración con anticoagulante se coloca en una placa de Petri y se evalúa si se obtuvo contenido medular a través de la observación macroscópica de espículas que se ven como pequeños “granos blancos”. Luego se toman las mismas con un microhematocrito, se depositan sobre un portaobjetos para realizar los extendidos medulares. Este procedimiento debe realizarse dentro de los 10 min de extraída la muestra ya que las células de médula ósea son muy frágiles y se deterioran rápidamente.

Otra forma de procesar es colocando una muestra obtenida sin anticoagulante en un vidrio de 10x10 cm el cual deberá estar ligeramente inclinado y del mismo se toma la muestra con otro porta desde la superficie y se hacen extendidos sobre otros portaobjetos como la técnica del frotis. El inconveniente es que de esta forma, se debe procesar antes de 3 minutos. Cualquiera sea la forma de obtención de los extendidos se deja secar a temperatura ambiente previo a la coloración.

Posibles complicaciones

Las complicaciones en el paciente por la técnica de aspiración de médula ósea son poco frecuentes, pero pueden presentarse reacciones adversas al sedante y/o anestésico empleado, al igual que daños en los tejidos circundantes por el paso de la aguja, como así también el sangrado en el sitio de punción.

Métodos de tinción

Las preparaciones de muestras aspiradas, una vez secas, se tiñen con las mismas técnicas que las empleadas para frotis sanguíneos. Pueden utilizarse, por tanto, tinción de Giemsa, May-Grünwald-Giemsa o una tinción rápida como es la T15 o similar.

Para el estudio de los depósitos de hierro en ambos tipos de muestras se requiere una tinción específica como la de Pearls o Azul de Prusia.

Observación microscópica del extendido de medula ósea

Para la observación de médula ósea se necesita de un entrenamiento previo. La evaluación de la médula consiste en:

- 1) Examen microscópico a menor aumento (10x)
 - Muestra adecuada
 - Estimación de la celularidad
 - Evaluación de los megacariocitos
- 2) Examen microscópico a mayor aumento (100x) contando 500 células.
 - Diferenciar grupos celulares mieloide y eritroide
 - Estimar la relación mieloide: eritroide (M:E)
 - Evaluar otros tipos celulares

Por lo tanto, debemos considerar como muestra ideal para la evaluación de M.O. observando con un objetivo

de 40X a efectos de verificar si existen partículas de médula (estroma y células asociadas), si están presentes los osteoblastos, los osteoclastos y los megacariocitos. Una celularidad inadecuada y la ausencia de partículas, normalmente nos indica una técnica de aspiración con contaminación sanguínea. Para una buena valoración se debe observar el mayor número posible de partículas, pues la celularidad puede variar en cada área. La celularidad normal presenta variaciones con la edad del animal, la médula de animales muy jóvenes contiene muy pocas células adiposas, en ellos aparece un 25 % de adipocitos y un 75 % de células hematopoyéticas. En los adultos, la proporción es del 50 % y en animales gerontes la proporción es de 75 % de adipocitos y 25 % de células hematopoyéticas.

Citología normal de medula ósea

En la serie eritroide:

Pronormoblastos: son células de 12 -20 μm con un citoplasma de basófilia marcada , presencia de arcosplasma (aparato de Golgi) y en el núcleo se ve un nucléolo evidente.

Normoblasto basófilo: miden entre 10-15 μm , tienen basófilia marcada del citoplasma , en el núcleo ya no se ven nucléolos, y presentan una cromatina en grumos.

Normoblasto policromatófilo: mide 10-12 μm , tamaño similar al normoblasto basófilo, presenta distinta basofilia a medida que va reduciendo el tamaño, núcleo con cromatina más compacta, es el último estadio en el que se produce la división mitótica.

Normoblasto ortocromático: mide 8-10 μm , se observa menor cantidad de citoplasma, de color grisáceo, núcleo picnótico. Madura a reticulocito (al perder el núcleo).

En la serie mieloide:

Mieloblasto: mide de 15-20 μm , célula redonda, con núcleo irregular, cromatina nuclear laxa, con uno o más nucléolos, el citoplasma es grisáceo, carece de granulaciones.

Promielocito: mide 16-25 μm , es una célula redonda de mayor tamaño, núcleo excéntrico, rara vez se ven nucléolos, citoplasma con granulaciones azurófilas características.

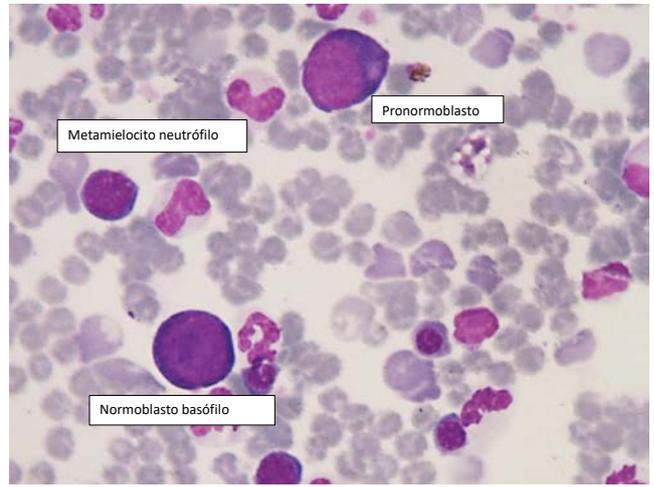
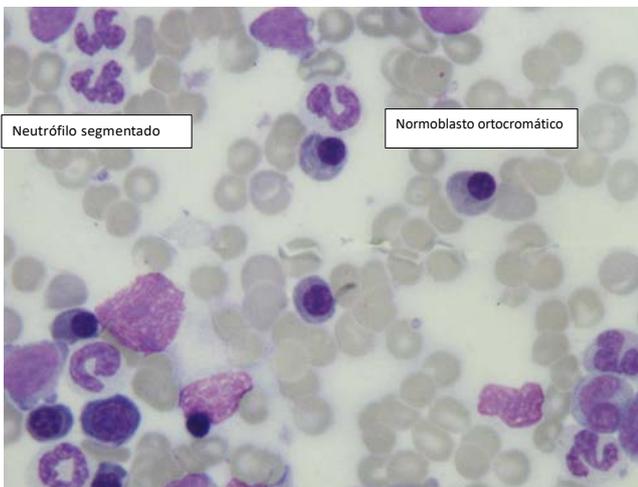
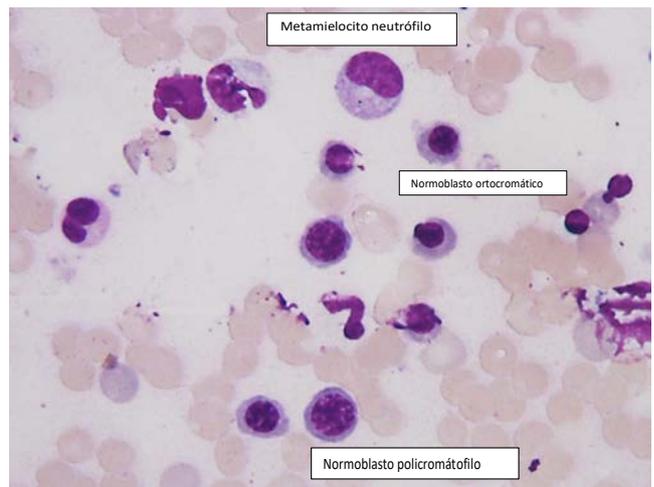
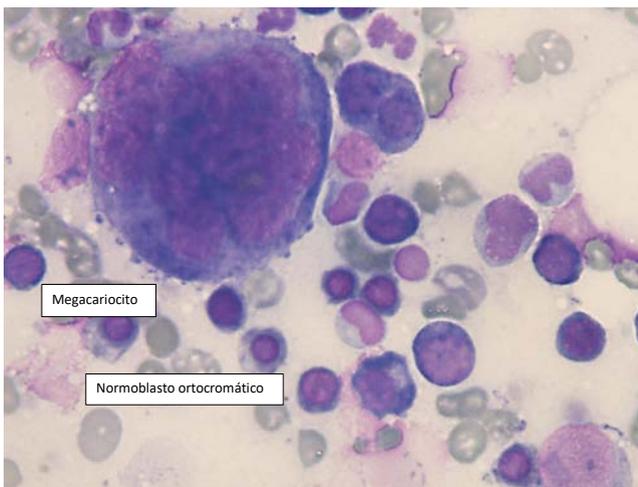
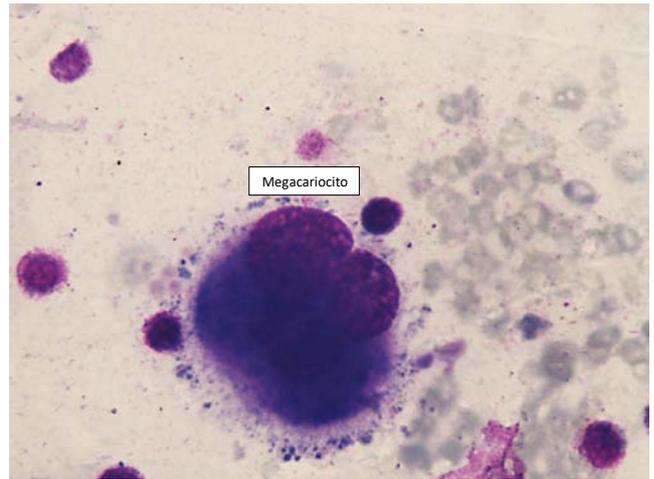
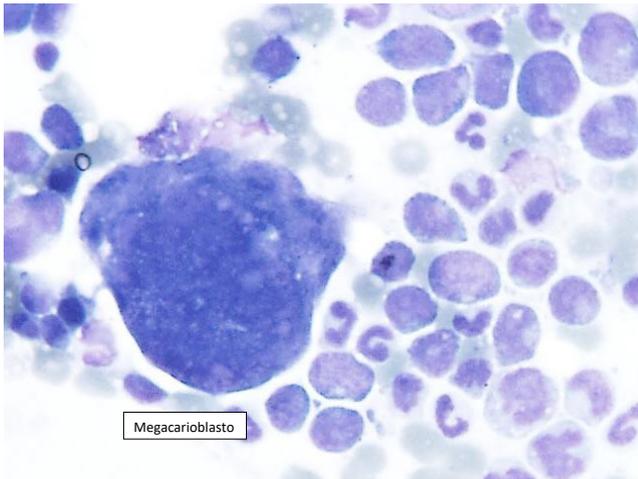
Mielocito: mide 12-18 μm , célula redonda, con núcleo de cromatina condensada, citoplasma que varía de color según el granulo predominante, se identifica como neutrófilo o eosinófilo.

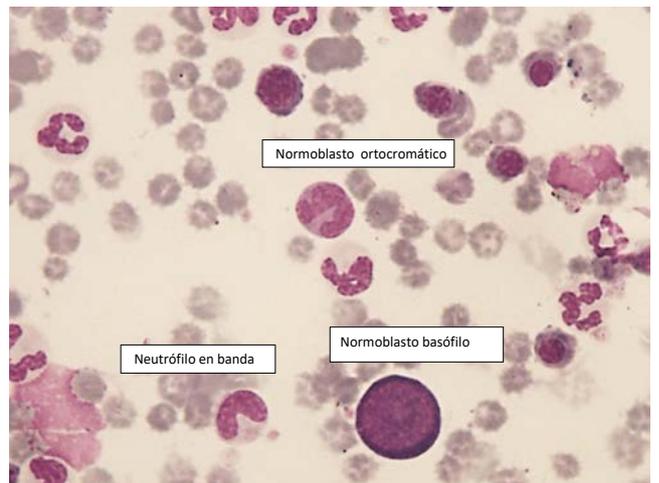
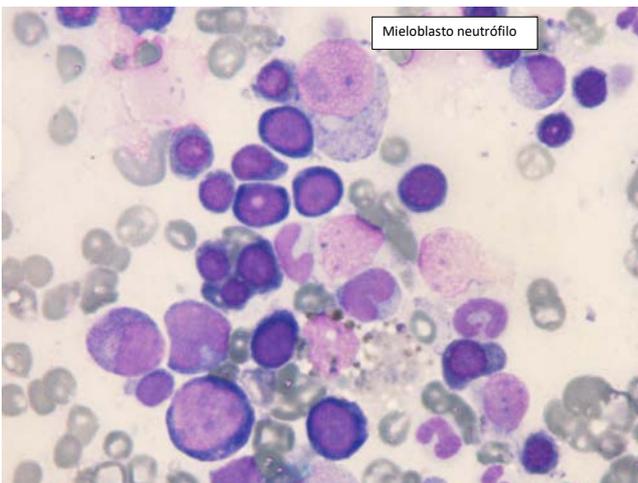
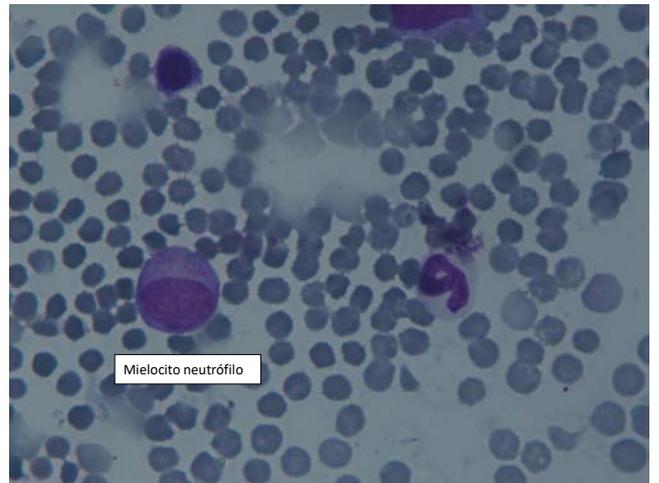
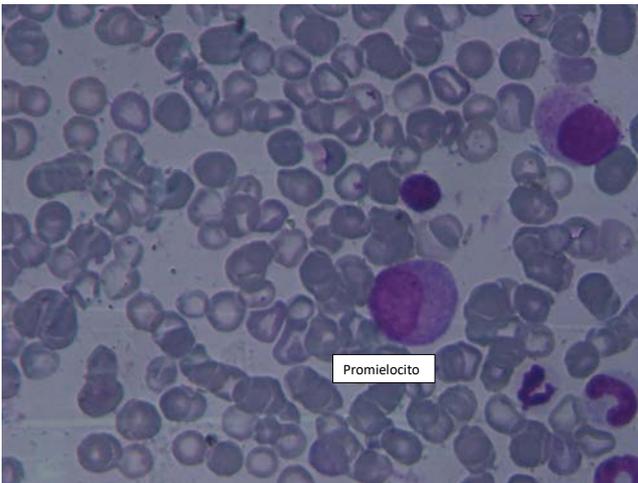
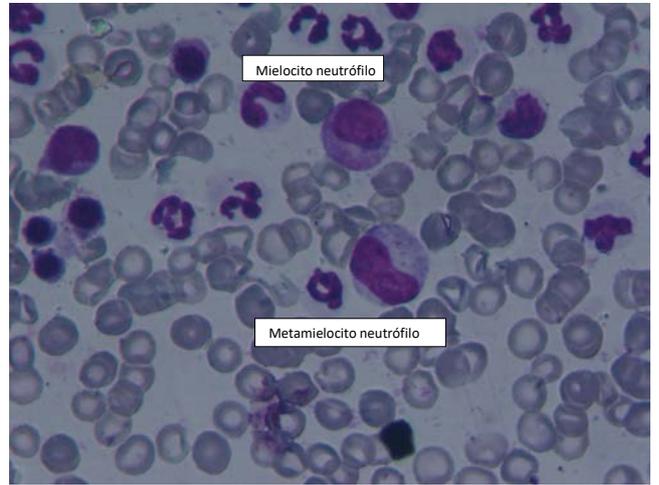
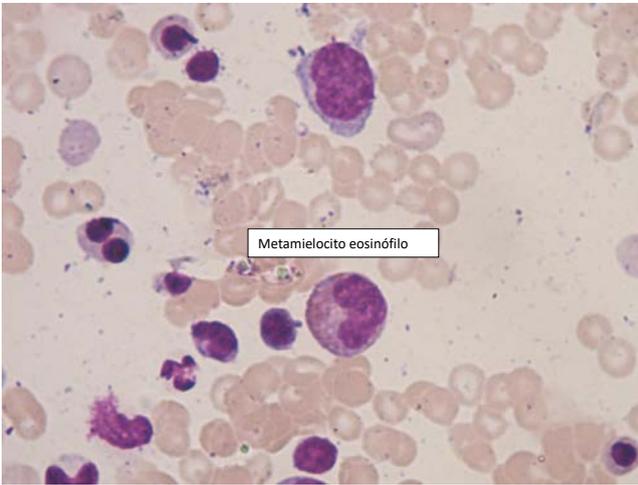
Metamielocito: mide 12-18 μm , el citoplasma es igual al mielocito, solo varía en el núcleo que adquiere forma de haba o de riñón.

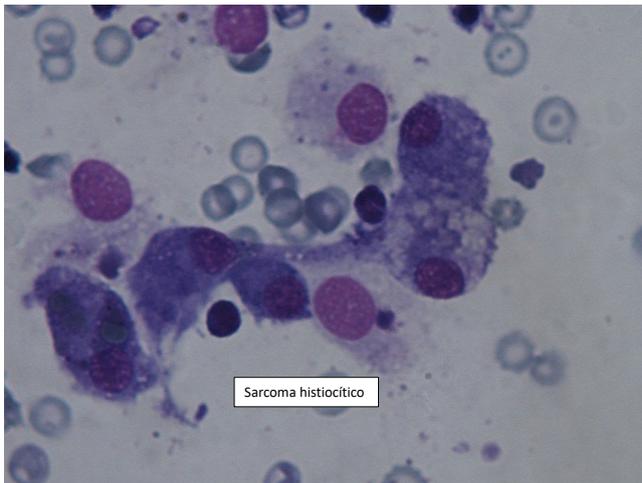
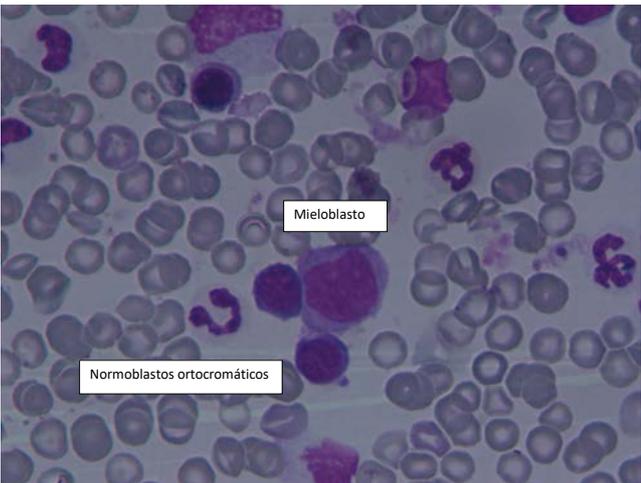
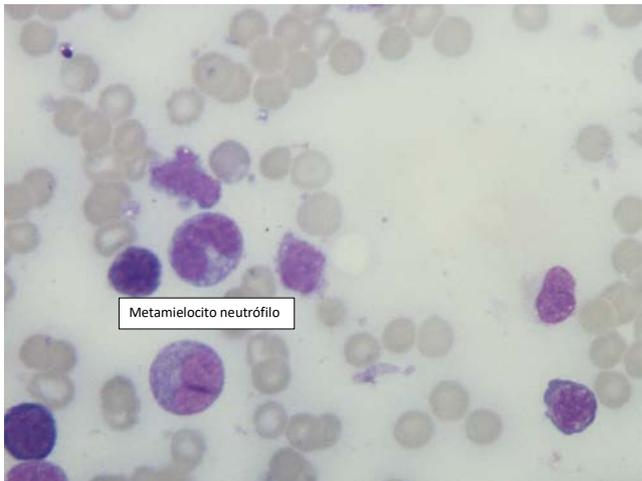
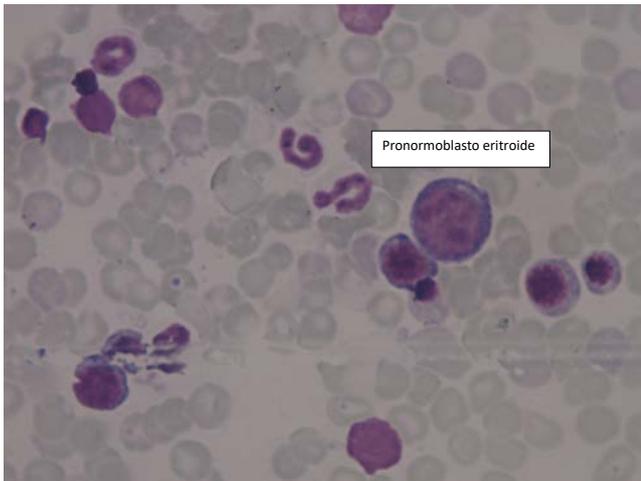
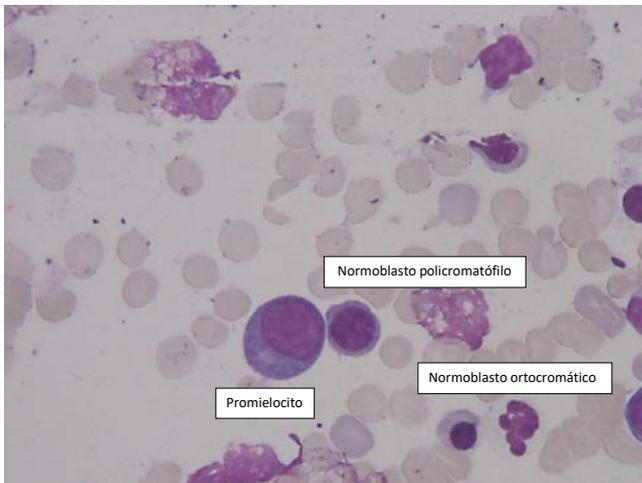
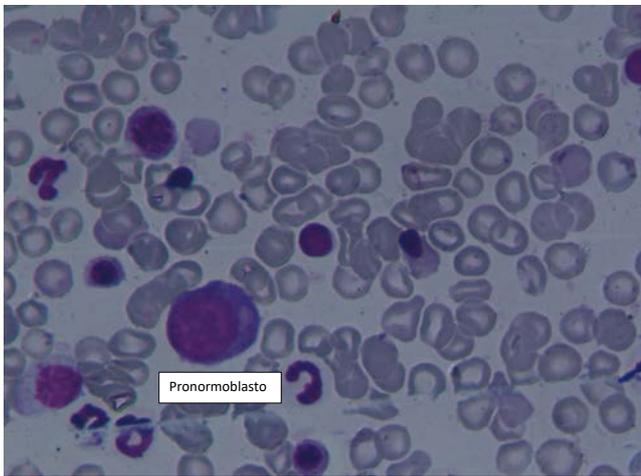
Neutrófilo en banda / eosinófilo: miden 12-18 μm se observan en el citoplasma gránulos anaranjados (en el caso de eosinófilos) o de color azul claro (en el caso de neutrófilo) y el núcleo tiene forma de herradura.

Segmentado neutrófilo / eosinófilo: miden 12-18 μm y es el estadio final de los granulocitos, el núcleo está segmentado (multilobulado), con predominio de gránulos naranja en el caso de eosinófilo o azul claro en el caso de neutrófilos.

Fotos de los distintas células halladas en extendido de médula ósea normal







A.Alteraciones o cambios cuantitativos de la médula ósea

En general y en condiciones normales la producción de células de la serie eritroide es aproximadamente igual a la de las células de la serie mieloide y por tanto la relación mieloide-eritroide (M:E) se encuentra alrededor de 1,5 (2:1). Este índice nos da una relación de la hematoyesis mieloide y eritroide y debe ser interpretado en relación al número absoluto de eritrocitos y granulocitos sanguíneos. El índice está aumentado cuando existe hiperplasia mieloide o hipoplasia eritroide y está disminuido cuando existe hipoplasia mieloide o hiperplasia eritroide. Los resultados del hemograma son usados para determinar qué líneas celulares están aumentadas o disminuidas y qué desvíos del índice M:E van a causar.

Los megacariocitos se identifican fácilmente, aunque constituyen menos del 5 % del total de las células nucleadas.

A.1.Condiciones hiperplásicas

Hiperplasia eritroide

La hiperplasia eritroide es característica de las anemias regenerativas (hemorragias o hemólisis).

Hiperplasia granulocítica

Se asocia con estados inflamatorios crónicos. En estos casos todos los tipos celulares de la serie, incluyendo las formas más inmaduras, se encuentran en número superior al normal. Suele acompañarse de una disminución en la actividad eritroide la cual se traduce en una ligera anemia que se desarrolla en los estados inflamatorios crónicos debido fundamentalmente a una interferencia en el metabolismo del hierro.

Hiperplasia megacariocítica

Se produce cuando existe trombocitopenia debida a situaciones que conlleven consumo, destrucción o secuestro de plaquetas como ocurre en la CID, trombocitopenia inmunomediada, esplenomegalia y algunas enfermedades crónicas inflamatorias. Por lo tanto el examen de médula ósea será definitivo para distinguir, por tanto, la trombocitopenia por causas hipoproliferativas o por causas destructivas.

A.2.Condiciones hipoplásicas

Son aquellas en las que disminuye el número de componentes de algún tipo celular o de todos en su conjunto. Casi siempre aparecen como hipoplasias medulares generalizadas, es decir, que afectan a todas las series celulares. En ciertos casos puede darse únicamente una hipoplasia eritroide como la que se observa en la insuficiencia renal, anemia de enfermedad inflamatoria y/o endócrinas.

Las hipoplasias granulocítica o megacariocítica no se presentan como entidades separadas.

Las causas más frecuentes de hipoplasia generalizada de M.O. son la ehrlichiosis, toxicidad por estrógenos, infección por VILeF, efecto de drogas citotóxicas, necrosis medular, mielofibrosis, tumores hematopoyéticos. Todas cursan con cierto grado de citopenia en sangre periférica.

La aplasia de médula ósea implica una pérdida total en la producción de células hematopoyéticas, este trastorno conlleva a una pancitopenia en sangre periférica.

Esta entidad se ha asociado con el uso de ciertas drogas a dosis tóxica como: estrógenos, trimetoprim-sulfadiazina, febendazol, albendazol y azatioprina en perros. También se ha descrito en ciertas enfermedades

infecciosas como ehrlichiosis o VILeF. Alguna de estas causas puede originar una aplasia pura de células eritroides.

Tanto en la hipoplasia como en la aplasia medular la aspiración medular es inútil y el diagnóstico sólo puede realizarse por evaluación histológica de biopsias.

Mielofibrosis

La mielofibrosis se caracteriza por la sustitución del tejido hematopoyético normal por tejido fibroso, colágeno y fibroblastos proliferantes. Esta fibrosis de la M.O. se acompaña de hematopoyesis extramedular (metaplasia mieloide) del hígado y del bazo.

La aspiración medular en la mayoría de las veces resulta inútil y el diagnóstico debe basarse en el estudio histológico de biopsias.

B. Alteraciones en la maduración

Deficiencia de hierro

Deficiencia de Vitamina B12 y ácido fólico.

C. Alteraciones neoplásicas hematopoyéticas

C.1. Alteraciones linfoproliferativas

Leucemia linfoblástica aguda

La LLA es una enfermedad de curso rápido caracterizada por la infiltración maligna de la médula ósea y de órganos linfoides por células blásticas linfoides poco diferenciadas. En el perro su etiología se desconoce, mientras que en el gato el 80 % de las veces está asociada a VILeF.

Leucemia linfocítica crónica

La leucemia linfocítica crónica (LLC) es una enfermedad de larga evolución que se caracteriza por la proliferación maligna de linfocitos pequeños de aspecto morfológico similar a los linfocitos normales. Es más frecuente en el perro que en el gato y éstos generalmente serológicamente son FeLV negativos.

Linfoma

Es una enfermedad sistémica progresiva debido a la proliferación maligna y descontrolada de células del sistema linfocítico. Existen diferentes clasificaciones basadas en la localización anatómica, criterios histológicos, características de inmunofenotipo y molecular. La presentación más creciente en caninos es una linfadenopatía generalizada y los signos clínicos son muy variables o pueden no presentarse.

Puede ser difícil diferenciar una LLC del estadio V de linfoma en el que hay compromiso medular. Es por ello que el estudio de médula ósea permite observar las siguientes diferencias: presencia de blastos en linfoma y presencia de linfocitos maduros > 13 % en LLC.

Mieloma múltiple

El mieloma múltiple o plasmocitoma es la proliferación neoplásica de plasmocitos (células linfocíticas tipo B) en la médula ósea caracterizada por la producción de una inmunoglobulina monoclonal (gammapatía monoclonal) y por lesiones osteolíticas que corresponden a “nidios” de plasmocitos tumorales.

El diagnóstico del mieloma múltiple lo obtendremos al encontrar una plasmocitosis al menos superior al 5 %

en el medulograma, aunque se considera más característica la existencia de porcentajes superiores al 30 %. Junto con la evaluación de la M.O. se debe considerar la presencia de lesiones osteolíticas en huesos largos así como la presencia de una gammapatía monoclonal a través del proteinograma o proteinuria de Bence-Jones, siendo esta última menos constante.

C.2.Alteraciones mieloproliferativas

Leucemia mieloide aguda

El hemograma en la LMA se caracteriza por una leucocitosis extrema con presencia de blastos circulantes, acompañado de anemia severa y trombocitopenia, de curso rápido caracterizadas por un medulograma en el que más del 30 % de las células son blastos.

Leucemia mieloide crónica

La leucemia mieloide crónica (LMC) se produce por la proliferación de la serie granulocítica. El medulograma muestra una médula hiper celular debida a la extrema hiperplasia mieloide en la que se respeta la pirámide de maduración. Por tanto, el medulograma por sí solo no nos permite el diagnóstico pues únicamente informa de una intensa proliferación mieloide en todos los estados de maduración. Para su identificación se utiliza una técnica citoquímica fosfatasa alcalina leucocitaria, que marca los gránulos de los granulocitos tumorales (Foto 55).

Trombocitemia esencial

Es un síndrome mieloproliferativo, que se caracteriza por presentar en sangre periférica un recuento de plaquetas mayor a 800.000/ μ l , con anemia y leucopenia, en la citología medular se observa distintos grados de maduración de los megacariocitos.

Policitemia vera

Es un síndrome mieloproliferativo caracterizado por un aumento exacerbado de glóbulos rojos con una independencia a la presencia de eritropoyetina siendo los mismos afuncionales. Se caracteriza por presentar hematocritos mayor a 60 %, su diagnóstico es difícil a través de la punción de medula ósea, debido que solo se observa una hiperplasia eritroide.

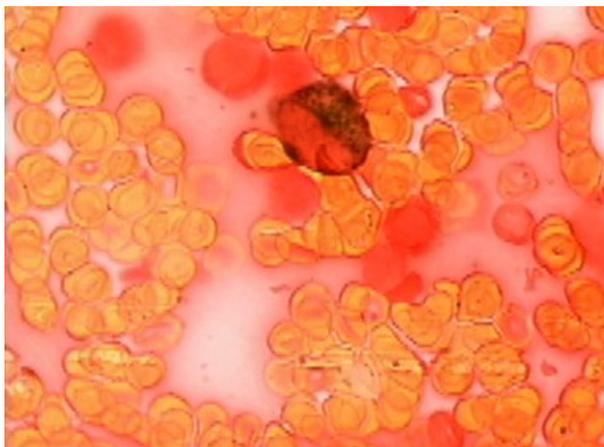


Foto 55. Técnica citoquímica de fosfatasa alcalina leucocitaria positiva en LMC canina.

Caso clínico nº 1

ESPECIE: Felino RAZA: Siamés SEXO: Macho EDAD: 2 años

MOTIVO DE CONSULTA: Decaimiento e inapetencia.

ANTECEDENTES: El paciente fue adquirido de un refugio ubicado en la provincia de Buenos Aires hace 8 meses. En el momento de ingreso al lugar le realizaron la cirugía de castración. Convive con dos gatas esterilizadas desde cachorras. Tiene acceso al exterior.

HALLAZGOS EN EL EXAMEN FÍSICO: Actitud deprimida, baja condición corporal, mucosas pálidas, taquipnea y debilidad.

MUESTRA REMITIDA: Sangre con anticoagulante EDTA para realizar hemograma.

HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS:

	Unidades	%	Valor hallado	Valor de referencia	
Hematocrito	%		14	24-45	
Hemoglobina	g/dl		4,7	8-15	
Recuento glóbulos rojos	10 ⁶ /μl		1,7	5-10	
VCM	fl		82,4	34-55	
HCM	pg		27,6	12,5-17,5	
CHCM	g/dl		33,6	30-36	
Leucocitos	/μl		7000	5500-19500	
Neutrófilos en banda	/μl	0	0	0-3 %	<585
Neutrófilos segmentados	/μl	72	5040	35-75 %	1000-1400 /μl
Eosinófilos	/μl	5	350	2-12 %	100-2500 /μl
Basófilos	/μl	0	0	0-3 %	<150 /μl
Linfocitos	/μl	20	1400	20-55 %	1100-10000 /μl
Monocitos	/μl	3	210	1-4 %	50-800 /μl
Recuento plaquetario	/μl		320000		200.000-500.000
Reticulocitos Corregidos (PRC)	%		3	1,5-2	

Observaciones:

Serie Roja: Anisocitosis, policromasia, presencia de células en diana, presencia de estructuras basófilas con forma de coco o bastón sobre la superficie de los glóbulos rojos compatibles con *Mycoplasma* spp.

Serie Blanca: Sin particularidades

MANEJO DEL CASO CLÍNICO:

Los antecedentes, examen físico y hallazgos de laboratorio permitieron arribar al diagnóstico presuntivo de micoplasmosis felina, el cual fue confirmado mediante la técnica de PCR específica para micoplasmas hemotróficos. Se realizó además la prueba para antígenos del virus de la leucemia felina (VILeF) y anticuerpos para el virus de la inmunodeficiencia felina (VIF) siendo esta última positiva. La micoplasmosis es la causa más frecuente de anemia hemolítica infecciosa en felinos. Los animales afectados generalmente cursan con un cuadro hemolítico debida a la destrucción de los glóbulos rojos infectados por el sistema inmune. En este paciente, la respuesta regenerativa frente a la anemia se evidencia por el resultado del PRC > a 2 y además en el frotis se pudo observar anisocitosis y policromasia. La observación de estructuras cocobacilares basófilas menores a 1 μm, sobre la superficie de los glóbulos rojos aproximan al diagnóstico aún más la sospecha de esta enfermedad. El paciente fue tratado con oxitetraciclina (20 mg/kg) cada 8 horas durante 21 días. Luego de este lapso el animal presentó mejoría clínica y se repitió el examen hematológico no encontrándose alteraciones en el mismo.

Caso clínico nº 2

ESPECIE: Canino RAZA: Labrador SEXO: Hembra EDAD: 6 años

MOTIVO DE CONSULTA: Decaimiento, vómitos.

ANTECEDENTES: Control de la reproducción mediante progestágenos.

HALLAZGOS EN EL EXAMEN FÍSICO: Depresión, inapetencia, descarga vulvar purulenta, temperatura 40 °C

MUESTRA REMITIDA: Sangre con anticoagulante EDTA para realizar hemograma.

HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS:

	Unidades	%	Valor hallado	Valor de referencia	
Hematocrito	%		48	37-55	
Hemoglobina	g/dl		16	12-18	
Recuento glóbulos rojos	10 ⁹ /μl		7,2	5,5-8,5	
VCM	fL		66,7	60-77	
HCM	pg		22,2	19-24,5	
CHCM	g/dl		33,3	32-36	
Leucocitos	/μl		35000		6000-17000 /μl
Neutrófilos en banda	/μl	10	3500	0-3 %	<510 /μl
Neutrófilos segmentados	/μl	80	28000	60-77 %	3600-13100 /μl
Eosinófilos	/μl	0	0	2-10 %	120-1700 /μl
Basófilos	/μl	0	0	0-1 %	<150 /μl
Linfocitos	/μl	8	2800	12-30 %	700-5100 /μl
Monocitos	/μl	2	700	3-10 %	180-1700 /μl

Observaciones:

Serie Roja: Normocitosis, normocromía.

Serie Blanca: Leucocitosis con neutrofilia y desvío a la izquierda. Presencia de neutrófilos tóxicos.

MANEJO DEL CASO CLÍNICO:

Los antecedentes, datos del examen físico y hallazgos de laboratorio aproximan el diagnóstico a una piómetra, el cual fue confirmado mediante la observación de colecta uterina en los estudios radiológicos y ultrasonográficos realizados.

La presencia de leucocitosis con neutrofilia y desvío a la izquierda sugiere un proceso inflamatorio/infeccioso. Los cambios tóxicos (citoplasma basófilo y vacuolización del citoplasma de los neutrófilos sugieren una infección bacteriana o un proceso inflamatorio grave y generalmente se asocian con un pronóstico reservado. En este paciente se implementó un tratamiento de sostén para estabilización hemodinámica y del equilibrio hidroelectrolítico y luego un tratamiento quirúrgico (ovario-histerectomía).

Caso clínico nº 3

ESPECIE: Canino RAZA: Boxer SEXO: Hembra EDAD: 4 años

MOTIVO DE CONSULTA: Decaimiento, inapetencia.

ANTECEDENTES: Administración de estrógenos por servicio no deseado.

HALLAZGOS EN EL EXAMEN FÍSICO: Mucosas pálidas, descarga vulvar hemorrágica, retardo del tiempo de llenado capilar, pulso 160/min, frecuencia cardíaca 160/min, presencia de petequias en la cara interna del pabellón auricular, sangrado de encías.

MUESTRA REMITIDA: Sangre con anticoagulante EDTA para realizar hemograma y con anticoagulante citrato de sodio para realizar el coagulograma.

HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS:

	Unidades	%	Valor hallado	Valor de referencia	
Hematocrito	%		10	37-55	
Hemoglobina	g/dl		3.9	12-18	
Recuento glóbulos rojos	10 ⁶ /μl		1,5	5,5-8,5	
VCM	fL		66,6	60-77	
HCM	pg		23,5	19-24,5	
CHCM	g/dl		39	32-36	
Leucocitos	/μl		4000		6000-17000 /μl
Neutrófilos en banda	/μl	5	200	0-3 %	<510 /μl
Neutrófilos segmentados	/μl	75	3000	60-77 %	3600-13100 /μl
Eosinófilos	/μl	0	0	2-10 %	120-1700 /μl
Basófilos	/μl	0	0	0-1 %	<150 /μl
Linfocitos	/μl	20	800	12-30 %	700-5100 /μl
Monocitos	/μl	0	0	3-10 %	180-1700 /μl
Recuento plaquetario	/μl		30.000		200.000-500.000
Índice reticulocitario (IR)			0,4	1,5-2	
Tiempo de Protrombina (TP)			segundos	10	<12
Tiempo de tromboplastina parcial activada (KPTT)			segundos	21	<21

Observaciones:

Serie Roja: Anemia normocítica normocrómica. Serie Blanca: Leucopenia, neutropenia.

MANEJO DEL CASO CLÍNICO

Los antecedentes de la administración de estrógenos, datos del examen físico y hallazgos del laboratorio (anemia no regenerativa, leucopenia y trombocitopenia) sugieren la presencia de aplasia medular por intoxicación estrogénica.

En este paciente el tratamiento incluyó terapia de fluidos y transfusiones de sangre entera y plasma rico en plaquetas.

Caso clínico nº 4

ESPECIE: Canino RAZA: Cocker SEXO: Macho EDAD: 6 meses

MOTIVO DE CONSULTA: Decaimiento, inapetencia y orina con sangre.

ANTECEDENTES: El paciente reside en una casaquinta y no convive con otros animales. La propietaria manifiesta haber colocado cebos para combatir roedores en un galpón al cual la mascota tiene acceso.

HALLAZGOS EN EL EXAMEN FÍSICO: Mucosas pálidas, sangrado de encías, petequias y equimosis en piel. Se observa sangrado leve por ollares y ano.

MUESTRA REMITIDA: Sangre con anticoagulante EDTA para realizar hemograma. Además se envió sangre con anticoagulante Citrato de sodio para realizar coagulograma.

HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS:

	Unidades	%	Valor hallado	Valor de referencia	
Hematocrito	%		12	37-55	
Hemoglobina	g/dl		4,5	12-18	
Recuento glóbulos rojos	10 ⁶ /μl		1,8	5,5-8,5	
VCM	fL		66,7	60-77	
HCM	pg		25,0	19-24,5	
CHCM	g/dl		37,5	32-36	
Leucocitos	/μl		8000		6000-17000 /μl
Neutrófilos en banda	/μl	0	0	0-3 %	<510 /μl
Neutrófilos segmentados	/μl	66	5280	60-77 %	3600-13100 /μl
Eosinófilos	/μl	2	160	2-10 %	120-1700 /μl
Basófilos	/μl	0	0	0-1 %	<150 /μl
Linfocitos	/μl	28	2240	12-30 %	700-5100 /μl
Monocitos	/μl	4	320	3-10 %	180-1700 /μl
Recuento plaquetario	/μl		100000		200000-500000
Índice Reticulocitario (IR)			1	1,5-2	
Tiempo de Protrombina (TP)			segundos	20	12
Tiempo de tromboplastina parcial activada (KPTT)			segundos	17	21

Observaciones:

Serie Roja: Anemia normocítica normocrómica. Serie Blanca: Sin particularidades.

MANEJO DEL CASO CLÍNICO

Los datos de la anamnesis, los signos clínicos y el examen físico permiten arribar a la aproximación diagnóstica de intoxicación con rodenticidas que producen trastornos en la coagulación.

Los hallazgos hematológicos disminución de glóbulos rojos, hematocrito y concentración de hemoglobina y trombocitopenia leve son compatibles con la anemia por pérdida de sangre debido al trastorno de la coagulación. Además, el resultado de un tiempo de protrombina (TP) prolongado, que indica una disminución en la concentración de los factores de la vía extrínseca (principalmente del Factor VII por su corta vida media) en conjunto con un resultado de tromboplastina parcial (KPTT) normal permiten arribar a un diagnóstico presuntivo de intoxicación con derivados warfarínicos.

En este paciente el tratamiento consistió en realizar una transfusión de sangre entera y administración de vitamina K. Una vez finalizado el tratamiento se realizaron controles de laboratorio para verificar la normalización de los valores.

Caso clínico nº 5

ESPECIE: Canino RAZA: Dóberman SEXO: Macho EDAD: 10 años

MOTIVO DE CONSULTA: Anorexia, pérdida de peso, apatía y distensión abdominal.

ANTECEDENTES: Lo tienen desde cachorro con plan sanitario al día y sin acceso al exterior. La propietaria relata que hace unas semanas nota que ha perdido peso y disminuyó el apetito.

HALLAZGOS EN EL EXAMEN FÍSICO: Actitud deprimida, pérdida de estado corporal, linfadenopatía periférica generalizada, temperatura 40 °C.

MUESTRA REMITIDA: Sangre con anticoagulante EDTA para realizar hemograma.

HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS:

	Unidades	%	Valor hallado	Valor de referencia	
Hematocrito	%		43,5	37-55	
Hemoglobina	g/dl		17	12-18	
Recuento glóbulos rojos	10 ⁶ /μl		6,64	5,5-8,5	
VCM	fL		65,5	60-77	
HCM	pg		25,6	19-24,5	
CHCM	g/dl		39,1	32-36	
Leucocitos	/μl		25000		6000-17000 /μl
Neutrófilos en banda	/μl	0	0	0-3 %	<510 /μl
Neutrófilos segmentados	/μl	85	21250	60-77 %	3600-13100 /μl
Eosinófilos	/μl	0	0	2-10 %	120-1700 /μl
Basófilos	/μl	0	0	0-1 %	<150 /μl
Linfocitos	/μl	15	3750	12-30 %	700-5100 /μl
Monocitos	/μl	0	0	3-10 %	180-1700 /μl
Recuento plaquetario	/μl		200000		200000-500000 /μl

Observaciones:

Serie Roja: Anemia normocítica normocrómica.

Serie Blanca: Leucocitosis con neutrofilia.

MANEJO DEL CASO CLÍNICO

Los datos del examen físico (agrandamiento de los linfonódulos) hacen sospechar de la presencia de linfoma. Por lo tanto, se solicita el estudio citológico de la punción/ aspiración con aguja fina de los ganglios preescapular y popliteo.

Los resultados del examen citológico del ganglio mostraron abundante celularidad representada por células neoplásicas de estirpe linfóide con nucléolos evidentes. En base a estos hallazgos se indicó la biopsia para estudios inmunohistoquímicos a efectos de clasificar el tumor y establecer un pronóstico.

Caso clínico nº 6

ESPECIE: Canino RAZA: Caniche SEXO: Hembra EDAD: 5 meses

MOTIVO DE CONSULTA: Diarrea hemorrágica, vómitos, decaimiento.

ANTECEDENTES: Fue adquirida en un criadero

HALLAZGOS EN EL EXAMEN FÍSICO: Deshidratación 6%, mucosas pálidas, hipotermia.

MUESTRA REMITIDA: Sangre con anticoagulante EDTA para realizar hemograma.

HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS:

	Unidades	%	Valor hallado	Valor de referencia	
Hematocrito	%		17	37-55	
Hemoglobina	g/dl		5,6	12-18	
Recuento glóbulos rojos	10 ⁶ /μl		2,25	5,5-8,5	
VCM	fl		75,4	60-77	
HCM	pg		24,8	19-24,5	
CHCM	g/dl		32,9	32-36	
Leucocitos	/μl		18000		6000-17000 /μl
Neutrófilos en banda	/μl	3	540	0-3 %	<510 /μl
Neutrófilos segmentados	/μl	57	10260	60-77 %	3600-13100 /μl
Eosinófilos	/μl	20	3600	2-10 %	120-1700 /μl
Basófilos	/μl	0	0	0-1 %	<150 /μl
Linfocitos	/μl	15	2700	12-30 %	700-5100 /μl
Monocitos	/μl	5	900	3-10 %	180-1700 /μl
Índice Reticulocitario (IR)			1	1,5-2	

Observaciones:

Serie Roja: Anemia normocítica normocrómica.

Serie Blanca: Leucocitosis con neutrofilia, desvío a la izquierda y eosinofilia.

MANEJO DEL CASO CLÍNICO

De acuerdo a los antecedentes, examen físico y hallazgos de laboratorio se arribó a un diagnóstico presuntivo de gastroenteritis hemorrágica de origen parasitario. Por lo mencionado se solicitó un análisis de materia fecal en el cual se observaron huevos de *Ancylostoma* spp., que confirmaron el diagnóstico y se instauró el tratamiento antihelmíntico.

Caso clínico nº 7

ESPECIE: Canino RAZA: Mestiza SEXO: Macho EDAD: 8 años

MOTIVO DE CONSULTA: Anorexia e intolerancia al ejercicio.

ANTECEDENTES: Reside en una casa de fin de semana en la ciudad ribereña. Plan sanitario completo.

Los propietarios relatan que el paciente comenzó a estar decaído y con disminución del apetito.

HALLAZGOS EN EL EXAMEN FÍSICO: Condición corporal regular, mucosas pálidas, temperatura corporal 39 °C, deshidratación 6 %, taquipnea, ascitis.

MUESTRA REMITIDA: Sangre con anticoagulante EDTA para realizar hemograma.

HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS:

	Unidades	%	Valor hallado	Valor de referencia	
Hematocrito	%		33	37-55	
Hemoglobina	g/dl		10	12-18	
Recuento glóbulos rojos	10 ⁶ /μl		4,9	5,5-8,5	
VCM	fL		67,3	60-77	
HCM	pg		20	19-24,5	
CHCM	g/dl		30	32-36	
Leucocitos	/μl		23000		6000-17000 /μl
Neutrófilos en banda	/μl	5	1.150	0-3 %	<510 /μl
Neutrófilos segmentados	/μl	59	13.570	60-77 %	3600-13100 /μl
Eosinófilos	/μl	15	3.450	2-10 %	120-1700 /μl
Basófilos	/μl	0	0	0-1 %	<150 /μl
Linfocitos	/μl	14	3220	12-30 %	700-5100 /μl
Monocitos	/μl	5	1.015	3-10 %	180-1700 /μl
Índice Reticulocitario (IR)			1,2	1,5-2	

Observaciones:

Serie Roja: Anemia normocítica normocrómica.

Serie Blanca: Leucocitosis con neutrofilia, desvío a la izquierda y eosinofilia.

MANEJO DEL CASO CLÍNICO:

En base a la anamnesis, examen físico y resultados de laboratorio se sospechó de dirofilariasis. Por lo tanto, se solicitó la prueba inmunocromatográfica para detectar antígeno de *Dirofilaria immitis* y la prueba de Knott modificada para detectar microfilaremia. En ambas pruebas se obtuvo un resultado positivo confirmando el diagnóstico.

Caso clínico nº 8

ESPECIE: Canino RAZA: Mestizo SEXO: Hembra EDAD: 5 años

MOTIVO DE CONSULTA: Control de tratamiento quimioterápico por padecimiento de Tumor Venéreo Transmisible (TVT).

ANTECEDENTES: El paciente presentó un diagnóstico de TVT por el cual está recibiendo su tercera dosis (aplicación semanal) de Vincristina.

HALLAZGOS EN EL EXAMEN FÍSICO: Neoformación vulvar en remisión.

MUESTRA REMITIDA: Sangre con anticoagulante EDTA para realizar hemograma.

HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS:

	Unidades	%	Valor hallado	Valor de referencia	
Hematocrito	%		37	37-55	
Hemoglobina	g/dl		12,3	12-18	
Recuento glóbulos rojos	10 ⁶ /μl		5,5	5,5-8,5	
VCM	fL		67,2	60-77	
HCM	pg		22	19-24,5	
CHCM	g/dl		33,9	32-36	
Leucocitos	/μl		6000		6000-17000 /μl
Neutrófilos en banda	/μl	0	0	0-3 %	<510 /μl
Neutrófilos segmentados	/μl	70	4200	60-77 %	3600-13100 /μl
Eosinófilos	/μl	5	300	2-10 %	120-1700 /μl
Basófilos	/μl	0	0	0-1 %	<150 /μl
Linfocitos	/μl	20	1200	12-30 %	700-5100 /μl
Monocitos	/μl	5	300	3-10 %	180-1700 /μl
Recuento plaquetario	/μl		620.000		200000-500000 μl

Observaciones:

Serie Roja: Sin particularidades. Serie Blanca: Sin particularidades.

MANEJO DEL CASO CLÍNICO

Este paciente concurre a control quimioterápico, por lo cual se realizaron pruebas hematológicas para evaluar los posibles efectos adversos mielosupresores de la Vincristina (leucopenia). Los resultados del análisis demostraron valores dentro del rango de referencia. Se recomendó continuar con el tratamiento semanal. El recuento leucocitario, si bien está dentro del rango normal para la especie, se encuentra en el límite inferior y se observa trombocitosis, esto es debido a la acción de la droga sobre los megacario- citos, que produce liberación plaquetaria (trombocitosis transitoria).

Caso clínico nº 9

ESPECIE: Canino RAZA: Fox Terrier SEXO: Macho EDAD: 6 años

MOTIVO DE CONSULTA: Decaimiento, inapetencia, marcha rígida y descarga prepucial sanguinolenta independiente de la micción.

ANTECEDENTES: En un examen físico realizado anteriormente se halló la próstata aumentada de tamaño, de consistencia, forma y sensibilidad dentro de los parámetros normales. El diagnóstico presuntivo fue hiperplasia prostática benigna.

HALLAZGOS EN EL EXAMEN FÍSICO: Actitud deprimida, mucosas congestivas, temperatura 40 °C. En el examen reproductivo se examina prepucio, pene y testículo no observándose alteraciones. Al examen prostático por palpación digital se evidencia aumento de tamaño y dolor.

MUESTRA REMITIDA: Sangre con anticoagulante EDTA para realizar hemograma.

HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS:

	Unidades	%	Valor hallado	Valor de referencia	
Hematocrito	%		38	37-55	
Hemoglobina	g/dl		13	12-18	
Recuento glóbulos rojos	10 ⁶ /μl		5,7	5,5-8,5	
VCM	fL		66,7	60-77	
HCM	pg		22,8	19-24,5	
CHCM	g/dl		34,2	32-36	
Leucocitos	/μl		40000		6000-17000 /μl
Neutrófilos en banda	/μl	6	2400	0-3 %	<510 /μl
Neutrófilos segmentados	/μl	85	34000	60-77 %	3600-13100 /μl
Eosinófilos	/μl	0	0	2-10 %	120-1700 /μl
Basófilos	/μl	0	0	0-1 %	<150 /μl
Linfocitos	/μl	2	800	12-30 %	700-5100 /μl
Monocitos	/μl	7	2800	3-10 %	180-1700 /μl

Observaciones:

Serie Roja: Sin particularidades.

Serie Blanca: Leucocitosis con neutrofilia, desvío a la izquierda y monocitosis.

MANEJO DEL CASO CLÍNICO:

Analizando los antecedentes y correlacionándolos con los hallazgos al examen clínico, se llega a un diagnóstico presuntivo de prostatitis aguda posiblemente de origen bacteriano. Los resultados de las pruebas hematológicas se corresponden con un proceso inflamatorio/infeccioso agudo que se evidencia por la presencia de leucocitosis neutrofílica con desvío a la izquierda y monocitosis. Por lo cual se decide enviar una muestra de orina para urocultivo debido a que está contraindicada la obtención de eyaculado por la posibilidad de causar septicemia, y luego instaurar terapia antibiótica.

Caso clínico nº 10

ESPECIE: Canino RAZA: Ovejero Alemán SEXO: Macho EDAD: 7 años

MOTIVO DE CONSULTA: Depresión, anorexia.

ANTECEDENTES: El paciente ingresó a una clínica de urgencias con un cuadro temblores, mucosas pálidas, taquipnea y depresión marcada. Como antecedentes relevantes los propietarios mencionan que el animal recibió transfusiones sanguíneas por un cuadro de hemorragia post-traumática.

HALLAZGOS EN EL EXAMEN FÍSICO: Mucosas pálidas, hipotermia, pulso débil, taquicardia y taquipnea.

MUESTRA REMITIDA: Sangre con anticoagulante EDTA para realizar hemograma.

HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS:

	Unidades	%	Valor hallado	Valor de referencia	
Hematocrito	%		12	37-55	
Hemoglobina	g/dl		4,5	12-18	
Recuento glóbulos rojos	10 ⁶ /μl		1,25	5,5-8,5	
VCM	fl		96,0	60-77	
HCM	pg		36,0	19-24,5	
CHCM	g/dl		37,5	32-36	
Leucocitos	/μl		10000		6000-17000 /μl
Neutrófilos en banda	/μl	0	0	0-3 %	<510 /μl
Neutrófilos segmentados	/μl	70	7000	60-77 %	3600-13100 /μl
Eosinófilos	/μl	3	300	2-10 %	120-1700 /μl
Basófilos	/μl	0	0	0-1 %	<150 /μl
Linfocitos	/μl	24	2400	12-30 %	700-5100 /μl
Monocitos	/μl	3	300	3-10 %	180-1700 /μl
Indice Reticulocitario (IR)			2.5	1,5-2	

Observaciones:

Serie Roja: Anisocitosis, policromasia Serie Blanca: Leucograma normal.

MANEJO DEL CASO CLÍNICO:

Los signos clínicos compatibles con anemia y el antecedente de la transfusión realizada aproximan el diagnóstico a un cuadro de hemólisis por incompatibilidad sanguínea. Debido a que no existen anticuerpos naturales contra antígenos eritrocitarios caninos, la primera transfusión puede realizarse sin pruebas de compatibilidad. No obstante, el riesgo reside en que el receptor se sensibiliza a los antígenos y predispone al paciente a graves reacciones postransfusionales en tratamientos posteriores.

En este paciente se instauró un tratamiento con cristaloides isotónicos, corticosteroides de acción rápida vía IV (metilprednisolona hasta 10 mg/kg, dexametasona 1 mg/kg), antihistamínicos (difenhidramina 2-4 mg/kg o dexclorfeniramina maleato inyectable) y dopamina (5-10 μg/kg/min).

Caso clínico nº 11

ESPECIE: Canino RAZA: Bretón SEXO: Macho EDAD: 5 años

MOTIVO DE CONSULTA: Decaimiento, inapetencia, vómitos, rigidez al caminar.

ANTECEDENTES: Los propietarios notaron que desde hace aproximadamente dos días presenta vómitos, inapetencia, reticencia a moverse y decaimiento. No quiere comer y solo toma mucha agua pero la vomita. Presenta el plan sanitario incompleto. Tiene contacto con animales de producción y silvestres ya que es utilizado para actividades de cacería de aves en la temporada de caza.

HALLAZGOS EN EL EXAMEN FÍSICO: Actitud deprimida, temperatura corporal 40 °C. Mucosas hiperémicas, dolor a la palpación abdominal coincidente con región renal y secreción conjuntival purulenta.

MUESTRA REMITIDA: Sangre con anticoagulante EDTA para realizar hemograma

HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS:

	Unidades	%	Valor hallado	Valor de referencia	
Hematocrito	%		36	37-55	
Hemoglobina	g/dl		13	12-18	
Recuento glóbulos rojos	10 ⁶ /μl		5,35	5,5-8,5	
VCM	fL		67,3	60-77	
HCM	pg		24,3	19-24,5	
CHCM	g/dl		36,1	32-36	
Leucocitos	/μl		38000		6000-17000 /μl
Neutrófilos en banda	/μl	8	3040	0-3 %	<510 /μl
Neutrófilos segmentados	/μl	89	33820	60-77 %	3600-13100 /μl
Eosinófilos	/μl	0	0	2-10 %	120-1700 /μl
Basófilos	/μl	0	0	0-1 %	<150 /μl
Linfocitos	/μl	2	760	12-30 %	700-5100 /μl
Monocitos	/μl	1	380	3-10 %	180-1700 /μl

Observaciones:

Serie Blanca: Leucocitosis. Neutrofilia con desvío a la izquierda. Linfopenia. Presencia de neutrófilos tóxicos.

Bioquímica sanguínea: Uremia: 200 mg/dl, Creatinina: 5 mg/dl.

MANEJO DEL CASO CLÍNICO

Los antecedentes epidemiológicos, el cuadro clínico y los hallazgos hematológicos y bioquímicos hicieron sospechar de un proceso renal agudo de origen inflamatorio-infeccioso. El principal diagnóstico diferencial en este paciente fue leptospirosis por lo cual se remitieron muestras de suero para realizar la prueba de microaglutinación. Mediante la misma, se obtuvo un título de anticuerpos de 1:6400 para *Leptospira interrogans* serovar Canicola y de 1:800 para *Leptospira borgpetersenii* serovar Castellonis. El animal fue tratado con antibióticos, fluidos y antiéméticos logrando la remisión del cuadro. A los 15 días se envió una segunda muestra de suero obteniéndose títulos más bajos (seroconversión inversa).

Los hallazgos hematológicos (leucocitosis con neutrofilia y desvío a la izquierda) y bioquímicos (azotemia) en estos casos se deben a que la bacteria causa una afección sistémica con afectación de la función renal.

Caso clínico nº 12

ESPECIE: Canino RAZA: Siberian Huski SEXO: Macho EDAD: 7 meses

MOTIVO DE CONSULTA: Vómitos, diarreas y convulsiones.

ANTECEDENTES: Lo compraron en un criadero con plan sanitario completo. El animal reside en una casa quinta y viaja con el propietario eventualmente a una fábrica de baterías para autos. En el momento de la consulta los propietarios relatan que el paciente ha presentado una crisis convulsiva intensa, vómitos y diarreas.

HALLAZGOS EN EL EXAMEN FÍSICO: Resistencia a la palpación abdominal, hiperexcitación, temblores.

MUESTRA REMITIDA: Sangre con anticoagulante EDTA para realizar hemograma.

HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS:

	Unidades	%	Valor hallado	Valor de referencia	
Hematocrito	%		38	37-55	
Hemoglobina	g/dl		14	12-18	
Recuento glóbulos rojos	10 ⁶ /μl		5,7	5,5-8,5	
VCM	fL		66,7	60-77	
HCM	pg		24,6	19-24,5	
CHCM	g/dl		36,8	32-36	
Leucocitos	/μl		8000		6000-17000 /μl
Neutrófilos en banda	/μl	0	0	0-3 %	<510 /μl
Neutrófilos segmentados	/μl	75	6000	60-77 %	3600-13100 /μl
Eosinófilos	/μl	3	240	2-10 %	120-1700 /μl
Basófilos	/μl	0	0	0-1 %	<150 /μl
Linfocitos	/μl	20	1600	12-30 %	700-5100 /μl
Monocitos	/μl	2	160	3-10 %	180-1700 /μl

Observaciones:

Serie Roja: Presencia de un 4% de glóbulos rojos nucleados y puntillado basófilo.

Serie Blanca: Leucograma normal.

MANEJO DEL CASO CLÍNICO:

Considerando los antecedentes del paciente, el cuadro clínico neurológico y la presencia de glóbulos rojos nucleados y con puntillado basófilo se pudo aproximar el diagnóstico presuntivo de intoxicación con plomo. Se realizó una prueba terapéutica mediante la administración de EDTA cálcico (agente quelante del plomo, que aumenta su excreción renal). La respuesta satisfactoria al tratamiento y la medición de plomo en sangre superior a 60 μl/dl confirmó el diagnóstico.

Caso clínico nº 13

ESPECIE: Canino RAZA: Chihuahua SEXO: Hembra EDAD: 7 años

MOTIVO DE CONSULTA: control anual.

ANTECEDENTES: La tienen desde cachorra con plan sanitario completo. Le realizan un control anual de valores hematológicos y bioquímicos como medida preventiva.

HALLAZGOS AL EXAMEN FÍSICO: Al examen físico no se observan particularidades. Durante la extracción de sangre el paciente manifiesta nerviosismo y excitación.

MUESTRA REMITIDA: Sangre con anticoagulante EDTA para realizar hemograma.

HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS:

	Unidades	%	Valor hallado	Valor de referencia	
Hematocrito	%		37	37-55	
Hemoglobina	g/dl		12	12-18	
Recuento glóbulos rojos	10 ⁶ /μl		5,5	5,5-8,5	
VCM	fl		67,3	60-77	
HCM	pg		21,8	19-24,5	
CHCM	g/dl		32,4	32-36	
Leucocitos	/μl		20100		6000-17000 /μl
Neutrófilos en banda	/μl	0	0	0-3 %	<510 /μl
Neutrófilos segmentados	/μl	73	14673	60-77 %	3600-13100 /μl
Eosinófilos	/μl	0	0	2-10 %	120-1700 /μl
Basófilos	/μl	0	0	0-1 %	<150 /μl
Linfocitos	/μl	26	5226	12-30 %	700-5100 /μl
Monocitos	/μl	1	201	3-10 %	180-1700 /μl

Observaciones:

Serie Roja: Normocitosis, normocromía.

Serie Blanca: Leucocitosis con neutrofilia madura. Linfocitosis.

MANEJO DEL CASO CLÍNICO:

En este paciente los antecedentes del examen físico sin particularidades y el dato de excitación y miedo al momento de la extracción permiten confirmar que los hallazgos de la serie blanca del hemograma se tratan de una Pseudoneutrofilia o Neutrofilia fisiológica. En estos cuadros suele observarse una leve leucocitosis con neutrofilia sin desvío a la izquierda y linfocitosis debida a la liberación de epinefrina. Se habla de una pseudoneutrofilia porque en realidad el número total de leucocitos en sangre no varía ya que no hay liberación desde la médula ósea y el mecanismo que origina la leucocitosis es una redistribución de las células desde el compartimiento marginal al circulante.

Caso clínico n° 14

ESPECIE: Canino RAZA: Maltés SEXO: Macho EDAD: 17 años

MOTIVO DE CONSULTA: Vómitos, decaimiento, polidipsia.

ANTECEDENTES: Lo adoptaron desde cachorro. Plan sanitario al día. Acceso al exterior sólo con los propietarios. Hace 6 meses comenzó un tratamiento por insuficiencia cardiaca congestiva debido a falla de la válvula mitral. Al momento presenta pérdida de peso, polidipsia-poliuria, vómitos y anorexia.

HALLAZGOS AL EXAMEN FÍSICO: Actitud deprimida, pérdida de condición corporal, temperatura 38 °C, mucosas pálidas, tiempo de llenado capilar retardado. A la palpación abdominal se evidencia dolor en la región epi-mesogástrica. A la inspección de la cavidad bucal se observan úlceras.

MUESTRA REMITIDA: Sangre con anticoagulante EDTA para realizar hemograma.

HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS:

	Unidades	%	Valor hallado	Valor de referencia	
Hematocrito	%		20	37-55	
Hemoglobina	g/dl		6	12-18	
Recuento glóbulos rojos	10 ⁶ /μl		3	5,5-8,5	
VCM	fl		66,7	60-77	
HCM	pg		20	19-24,5	
CHCM	g/dl		20,0	32-36	
Leucocitos	/μl		9000		6000-17000 /μl
Neutrófilos en banda	/μl	0	0	0-3 %	<510 /μl
Neutrófilos segmentados	/μl	76	6840	60-77 %	3600-13100 /μl
Eosinófilos	/μl	0	0	2-10 %	120-1700 /μl
Basófilos	/μl	0	0	0-1 %	<150 /μl
Linfocitos	/μl	24	2160	12-30 %	700-5100 /μl
Monocitos	/μl	0	0	3-10 %	180-1700 /μl
Índice reticulocitario			0,8	1,5-2	

Observaciones:

Serie Roja: Anemia normocítica normocrómica no regenerativa (Índice reticulocitario 0,8).

Serie Blanca: Leucograma normal.

MANEJO DEL CASO CLÍNICO:

En este paciente se solicitaron estudios de laboratorios adicionales para evaluar la función renal. Los mismos permitieron confirmar la sospecha clínica de insuficiencia renal crónica secundaria probablemente al cuadro de insuficiencia cardíaca congestiva. La anemia normocítica, normocrómica no regenerativa presente en este paciente se correlaciona con la deficiencia de eritropoyetina existente como consecuencia de la falla renal.

Caso clínico nº 15

ESPECIE: Canino RAZA: Dóberman SEXO: Hembra EDAD: 3 años

MOTIVO DE CONSULTA: Decaimiento, anorexia y debilidad.

ANTECEDENTES: El paciente reside en una casa quinta en las afueras de la ciudad. Al comenzar la época estival los propietarios notaron la presencia de gran cantidad de ectoparásitos.

HALLAZGOS AL EXAMEN FÍSICO: Actitud deprimida, temperatura corporal 40 °C, mucosas pálidas y taquipnea. A la palpación abdominal se evidencia organomegalia.

MUESTRA REMITIDA: Sangre con anticoagulante EDTA para realizar hemograma

HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS:

	Unidades	%	Valor hallado	Valor de referencia	
Hematocrito	%		32	37-55	
Hemoglobina	g/dl		10,6	12-18	
Recuento glóbulos rojos	10 ⁶ /μl		4,8	5,5-8,5	
VCM	fl		66,6	60-77	
HCM	pg		22	19-24,5	
CHCM	g/dl		33,1	32-36	
Leucocitos	/μl		5000		6000-17000 /μl
Neutrófilos en banda	/μl	0	0	0-3 %	<510 /μl
Neutrófilos segmentados	/μl	70	3500	60-77 %	3600-13100 /μl
Eosinófilos	/μl	0	0	2-10 %	120-1700 /μl
Basófilos	/μl	0	0	0-1 %	<150 /μl
Linfocitos	/μl	29	1450	12-30 %	700-5100 /μl
Monocitos	/μl	1	50	3-10 %	180-1700 /μl
Índice Reticulocitario (IR)			2,4	1,5-2	
Recuento Plaquetario	/μl		120000		200000-500000 μl

Observaciones:

Serie Roja: Anisocitosis y policromasia. Se observaron estructuras piriformes de a pares dentro de los eritrocitos compatibles con merozoitos de *Babesia* spp.

Serie Blanca: Leucopenia. Trombocitopenia.

MANEJO DEL CASO CLÍNICO:

Teniendo en cuenta los antecedentes, hallazgos clínicos y resultados de laboratorio, se arribó al diagnóstico de babesiosis. Con respecto a la determinación de la especie involucrada en el cuadro clínico, se envió una muestra de sangre con anticoagulante EDTA para caracterización molecular obteniendo un resultado de *Babesia gibsoni*.

La anemia en este paciente era regenerativa por lo cual en el extendido se observó anisocitosis y policromasia y se obtuvo un índice reticulocitario >2. De acuerdo a su causa la anemia fue de origen hemolítico debido a que los eritrocitos infectados exponen antígenos en su superficie conduciendo a la destrucción inmunmediada por el sistema fagocítico mononuclear. Mientras que la presencia de trombocitopenia es un hallazgo frecuente en caninos con babesiosis y se postula que también es debida a un proceso inmunomediado.

Las anormalidades de los glóbulos blancos en los casos de babesiosis canina son variables, pudiéndose observar leucopenia con neutropenia (como en este paciente) o leucocitosis neutrofilica con o sin desvío a la izquierda.

El animal fue tratado con un protocolo específico para endo y ectoparásitos y se le indicó control clínico y hematológico durante y al finalizar el tratamiento.

Caso clínico nº 16

ESPECIE: Canino RAZA: Mestizo SEXO: Macho EDAD: 5 años

MOTIVO DE CONSULTA: decaimiento, dificultad para incorporarse y letargia.

ANTECEDENTES: El paciente fue adoptado de la calle hace un mes. En ese momento se encontraba con alta infestación de ectoparásitos y baja condición corporal. Fue llevado a una clínica veterinaria en donde comenzaron a realizar el plan sanitario (antiparasitarios externos e internos) y una dieta a base de alimento balanceado.

HALLAZGOS AL EXAMEN FÍSICO: Baja condición corporal (5/9), temperatura 39,5 °C, actitud deprimida, mucosas pálidas, paresia del tren posterior y dolor a la palpación de los músculos paraespinales.

HALLAZGOS HEMATOLÓGICOS:

MUESTRA REMITIDA: sangre con anticoagulante EDTA para realizar hemograma

	Unidades	%	Valor hallado	Valor de referencia	
Hematocrito	%		30	37-55	
Hemoglobina	g/dl		9,7	12-18	
Recuento glóbulos rojos	10 ⁶ /μl		4,5	5,5-8,5	
VCM	fl		66,6	60-77	
HCM	pg		21,5	19-24,5	
CHCM	g/dl		39	32-36	
Leucocitos	/μl		25000		6000-17000 /μl
Neutrófilos en banda	/μl	3	750	0-3 %	<510 /μl
Neutrófilos segmentados	/μl	81	20250	60-77 %	3600-13100 /μl
Eosinófilos	/μl	4	1000	2-10 %	120-1700 /μl
Basófilos	/μl	0	0	0-1 %	<150 /μl
Linfocitos	/μl	10	2500	12-30 %	700-5100 /μl
Monocitos	/μl	2	500	3-10 %	180-1700 /μl
Recuento Plaquetario	/μl		250.000		200000-500000 μl
Índice reticulocitario			0,7	1,5-2	

Observaciones:

Serie Roja: Anemia normocítica, normocrómica.

Serie Blanca: Leucocitosis. Leucocitosis con neutrofilia y desvío a la izquierda. Se observaron estructuras en forma de habano dentro del citoplasma de los neutrófilos compatibles con gamontes de *Hepatozoon* spp.

Los métodos complementarios para evaluar lesión en la columna vertebral resultaron no mostraron alteraciones.

MANEJO DEL CASO CLÍNICO:

Los antecedentes, datos del examen físico, y resultados de laboratorio confirman el diagnóstico de *Hepatozoon* spp.

El hallazgo de anemia normocítica normocrómica no regenerativa es frecuente en pacientes con hepatozoonosis canina debida a la inflamación crónica. Mientras que la presencia de leucocitosis con neutrofilia y desvío a la izquierda, presente en la mayoría de los caninos infectados con altas cargas parasitarias se debe principalmente al desarrollo de gran cantidad de merozoitos en tejidos como linfonódulos, médula ósea, hígado, bazo, pulmón y riñón.

El paciente fue tratado con fármacos específicos (Toltrazuril) y se le indicaron controles post-tratamiento mediante hematología y pruebas moleculares (PCR o PCR en tiempo real) para evaluar la eficacia del tratamiento.

Bibliografía

- Aceña MC, Gascón Perez F. Las alteraciones de la médula ósea en el perro y el gato. *Revista Clínica Veterinaria Pequeños Animales*. Vol 21, n° 3 2001 Universidad de Zaragoza.
- Aceña MC, Liste E, Gascón EM. Manejo Del Paciente Canino Oncológico. Guía práctica para la atención compasiva. G Ogilvie, A Moore. Editorial intermedica. 2008.
- Aceña MC, Liste E, Gascón EM. Biopsia de médula ósea en perro: técnica y utilidad diagnóstica. *Clínica veterinaria de pequeños animales*. Volumen 12 Número 2 Abril/Junio 1992.
- Aird B. Clinical and hematologic manifestations of anemia. In Feldman, B. F.; Zinkl, J. G.; Jain. N. C. (2000) *Schalm's Veterinary Hematology* ed 5 Lippincott Williams & Wilkins p140-142. Ed Panamericana
- Berent LM, Messick JB. Physical map and genome sequencing survey of *Mycoplasma hemofelis* (*Haemobartonella felis*). *Infect. Immun.* 2003 Jun; 71 (6):3657-62.
- Biopsia de médula ósea en perro: técnica y utilidad diagnóstica. *Clinica Veterinaria De Pequeños Animales* Volumen 12 Número 2 Abril/Junio 1992
- Buttarelo M. Laboratory diagnosis of anemia: are the old and new red cell parameters useful in classification and treatment, how? *Int J Lab Hematol.* 2016;38 Suppl 1:123-132
- Camacho AT, Pallas E, Gestal JJ, Guitian FJ, Olmeda AS. *Babesia canis* infection in a splenectomized dog. *Bull Soc Pathol Exot.* 2002 Mar;95(1):17-9.
- Camacho AT, Pallas E, Gestal JJ, Guitian FJ, Olmeda AS. Natural infection by a *Babesia microti*-like piroplasm in a splenectomized dog. *Vet Rec.* 2002 Mar 23;150(12):381-2
- Carney HC, England JJ. Feline hemobartonellosis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1993 Jan;23(1):79-90.
- Day MJ. Serial monitoring of clinical, haematological and immunological parameters in canine autoimmune haemolytic anaemia. *Small Anim Pract.* 1996 Nov; 37 (11):523-34.
- Duncan & Prasse's (2005) *Patología Clínica Veterinaria* 4ta Edición Latimer, K.S.; Mahaffey, E.A.; Prasse, K.W. Ed. Multimedia Ediciones Veterinarias ISBN 84-96344-10-X
- Erslev AJ. (1995) Anemia of chronic diseases. In Beutler E.; Lichtman; M.A.; Coller, B.S.; Kipps, T.J (eds): *Williams Hematology*, 5ed New York, McGraw-Hill, p 518.
- Feldman BF, Handagama P, Lubberink AA. Splenectomy as adjunctive therapy for immune-mediated thrombocytopenia and hemolytic anemia in the dog. *Am Vet Med Assoc.* 1985 Sep 15;187(6):617-9.
- Feldman BF, Kaneko JJ, Farver TB. Anemia of inflammatory disease in the dog: ferrokinetics of adjuvant-induced anemia. *Am J Vet Res* 42: 583, 1981:1109-13.
- Feldman BF, Zinkl JG. *Schalm's veterinary hematology*. 5ta edición. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, Pennsylvania 2000.
- Fernandez Algarra C. Citología de la Médula Osea y sangre. *Reduca (recursos educativos) seri veterinaria* .4 (1):70-76, 2012. Ford, R.B. (1992) *Signos clínicos y diagnósticos en pequeños animales*.

- George JW, Rideout BA, Griffey SM, Pedersen NC. Effect of preexisting FeLV infection or FeLV and feline immunodeficiency virus coinfection on pathogenicity of the small variant of *Haemobartonella felis* in cats. *Am J Vet Res.* 2002 Aug; 3 (8):1172-8.
- Gómez Baute, R.; Guerra Alfonso, T.; Salabert, L.D.; Fernández Aguila, J.D.; Cabrera Zamora, M. Revisión Bibliográfica: Teoría celular de la coagulación: de las cascadas a las membranas celulares *Revista Electrónica de las Ciencias Médicas en Cienfuegos* ISSN:1727-897X *Medisur* 2011; 9(2)
- Gunn-Moore DA, Day MJ, Graham ME, Cue SM, Harbour DA. Immune-mediated haemolytic anaemia in two sibling cats associated with multicentric lymphoblastic infiltration. *J Feline Med Surg.* 1999 Dec;1(4):209-14
- Haefner M, Burket TJ, Kitchell BE, Lamont LH, Schaeffer DJ, Behr M, Messick JB. Identification of *Haemobartonella felis* (*Mycoplasma haemofelis*) in captive nondomestic cats. *J Zoo Wildl Med* 2003 Jun; 34(2):139-43.
- Harvey JW, French TW, Meyer DJ. Chronic iron deficiency anemia in dogs. *JAAHA.* 1982; 18:946-960. Jain NC. (1986) *Schalm's Veterinary Hematology.* 4th ed. Philadelphia, Lea and Febiger.
- King LG, Giger U, Diserens D, Nagode LA. Anemia of chronic renal failure in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1991 Sep 1; 199 (5):601-5.
- King LG, Giger U, Diserens D. Anemia of chronic renal failure in dogs. *J Vet Intern Med.* (1992) 6:264.
- Kohn B, Goldschmidt MH, Hohenhaus AE, Giger UJ. Anemia, splenomegaly, and increased osmotic fragility of erythrocytes in Abyssinian and Somali cats. *Am Vet Med Assoc.* 2000 Nov 15; 217 (10):1483-91
- Lively KS. Aspiración de Médula Ósea y Evaluación. Paso robles veterinary medical clinic. 2012.
- Lively KS. Paso robles veterinary medical clinic, (805) 238-4622 Las alteraciones de la médula ósea en el perro y el gato. Lobetti RG, Reyers F, Nesbit JW. The comparative role of haemoglobinaemia and hypoxia in the development of canine babesial nephropathy. *Afr Vet Assoc.* 1996 Dec; 67 (4):188-98
- McManus PM, Craig LE. Correlation between leukocytosis and necropsy findings in dogs with immune-mediated hemolytic anemia: 34 cases (1994-1999). *J Am Vet Med Assoc.* 2001 Apr 15; 218(8):1308-13.
- Meinkoth JH, Kocan AA, Loud SD, Lorenz MD. Clinical and hematologic effects of experimental infection of dogs with recently identified *Babesia gibsoni*-like isolates from Oklahoma. *J Am Vet Med Assoc.* 2002 Jan 15; 220 (2):185-9.
- Meyer DJ. Harvey, J.W. *El Laboratorio en Medicina Veterinaria. Interpretación y Diagnóstico.* 3a edición. Editorial Multimédica Ediciones Veterinarias. 2007. Barcelona España, páginas 450.
- Mills JN, Day MJ, Shaw SE, Penhale WJ. Autoimmune haemolytic anaemia in dogs. *Aust Vet J.* 1985 Apr; 62(4):121-3
- Neiger R, Hadley J, Pfeiffer D. Differentiation of dogs with regenerative and non-regenerative anemia on the basis of their red cell distribution width and mean corpuscular volume. *Vet Rec.* 2002 6;150 (14):431-4.
- Nelson RW, Couto CG. *Small Animal Internal Medicine.* 2 nd ed. Mosby, (1998). pp 1161-1173.
- Ogilvie G, Moore A. *Manejo del paciente canino oncológico. Guía práctica para la atención compasiva.* Editorial Intermedica. 2008.

- Otsuka Y, Yamasaki M, Yamato O, Maede Y. The effect of macrophages on the erythrocyte oxidative damage and the pathogenesis of anemia in *Babesia gibsoni*-infected dogs with low parasitemia. *J Vet Med Sci.* 2002 Mar; 64 (3):221-6
- Paltrinieri S, Comazzi S, Agnes F. Haematological parameters and altered erythrocyte metabolism in anaemic dogs. *J Am Anim Hosp Assoc.* 1999 Sep-Oct; 35 (5):384-91.
- Paltrinieri S, Comazzi S, Agnes FJ. Haematological parameters and altered erythrocyte metabolism in anaemic dogs. *Comp Pathol.* 2000 Jan; 122 (1):25-34
- Paltrinieri S, Sartorelli P, De Vecchi B, Agnes F. Metabolic findings in the erythrocytes of cardiopathic and anaemic dogs. Istituto di Patologia Generale Veterinaria, Milano, Italy. *J Comp Pathol.* 1998 Feb; 118 (2):123-33
- Paltrinieri S, Sartorelli P, De Vecchi B, Agnes FJ. Metabolic findings in the erythrocytes of cardiopathic and anaemic dogs. *Am Vet Med Assoc.* 1998 Feb 15; 212 (4): 521-8.
- Perman V, Schall WB. (1983) Diseases of the red blood cells. In Ettinger, S. J (ed): *Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and Cat.* 2nd ed., vol. 2. Philadelphia, W. B. Saunders.
- Practical Application of Bone Marrow Aspiration and Its Interpretation Harold Tvedten Sweden WSAVA 2001
- Reagan WJ, Sanders TG, DeNicola DB. *Veterinary Hematology. Atlas of Common Domestic Species.* First edition, 1998. Ed Iowa State Press.
- Rebar A, Metzger F. (1995). *Clinical Pathology for Small-Animal practitioners: Interpreting the hemogram.* The Veterinary CER Advisor. Supplement to *Veterinary Medicine.*
- Rebar, A. H. Anemia. (1992) En Ford. *Signos clínicos y diagnóstico en pequeños animales.* P 75-99
- Reimer ME, Troy GC, Warnick LD. Immune-mediated hemolytic anemia: 70 cases (1988-1996). *Am Anim Hosp Assoc.* 1999 Sep-Oct; 35 (5):384-91.
- Schalm OW. Morphologic classification of anemias: *Vet. Clin. Pathol.* 1978; 7:6-8.
- Schalm's Veterinary Hematology. Feldman BF, Zinkl JG, Jain NO. 6ta edición. 2010.
- Stokol T, Blue JT, French TW. Idiopathic pure red cell aplasia and nonregenerative immune-mediated anemia in dogs: 43 cases (1988-1999). *Am Vet Med Assoc.* 2000 May 1; 216 (9):1429-36
- Sweden. Practical Application of Bone Marrow Aspiration and Its Interpretation Harold Tvedten WSAVA 2001
- Sykes JE, Bailiff NL, Ball M, Foreman O, George JW, Fry MM. Identification of a novel hemotropic mycoplasma in a splenectomized dog with hemic neoplasia. *JAM Vet Med Assoc* 2004 Jun 15; 224(12):1946-51, 1930-1.
- Thomford J, Yamane I, Whiting J, Bosma L, Uno T, Holshuh HJ, Shelly S. Hemolytic anemia caused by *Babesia gibsoni* infection in dogs. Conrad P, *Am Vet Med Assoc.* 1991 Sep 1; 199 (5):601-5
- Tvedten H, Weiss DJ. Classification and laboratory evaluation of anemia. In Feldman, B. F.; Zinkl, J. G.; Jain, N. C. (2000) In *Schalm's Veterinary Hematology* ed 5 Lippincott Williams & Wilkins p143-150
- Tyler RD, Cowell RL. Classification and diagnosis of anemia. *Comp Haematol Int* (1996)6:1
- VanSteenhouse JL, Taboada J, Dorfman MI. Hemobartonella felis infection with atypical hematological abnormalities. *Am Anim Hosp Assoc.* 1995 Mar-Apr; 31 (2):165-9

- Villiers, E. and Dunn, J. K. (1998) In: BSAVA. Manual of Small Animal Clinical Pathology. Davidson, M. Else, R. and Lumsden, J. eds. pp. 33-60.
- Waner T, Harrus S. Anemia of inflammatory disease. In Feldman, B. F.; Zinkl, J. G.; Jain. N. C. (2000) Schalm's Veterinary Hematology ed 5 Lippincott Williams & Wilkins p 205-209. Ed Panamericana
- Weiser MG. (1995). Erythrocyte responses and disorders. In: Ettinger, S. J. Textbook of Veterinary Internal Medicine. W. B. Saunders Company, pp. 1864-1891.
- Weiss DJ, Adams LG. Aplastic anemia associated with trimethoprim-sulfadiazine and fenbendazole administration in a dog. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 1987 Nov;17(6):1443-61
- Weiss DJ, Klausner JS. Drug-associated aplastic anemia in dogs: eight cases (1984-1988). J Am Vet Med Assoc. 1990 Jan 1; 196(1):96-9
- Weiss DJ. Aplastic anemia. In Feldman, BF, Zinkl JG, Jain NC. (2000) Schalm's Veterinary Hematology ed 5 Lippincott Williams & Wilkins p 212-215. Ed. Panamericana
- Westfall OS, Jensen WA, Reagan WJ, Radecki SV, Lappin MR. Inoculation of two genotypes of Hemobartonella felis (California and Ohio variants) to induce infection in cats and the response to treatment with azithromycin. Am J Vet Res. 2001 May; 62 (5): 687-91
- WHatvey J. Veterinary hematology, a diagnostic guide and color atlas. by saunders, anim print of elsevier inc. 2012.
- Willard MD, Tvedten H, Turnwald GH. (1993) Diagnóstico Clinicopatológico Práctico en los animales pequeños .Ed. Intermédica, pp. 39-61
- Willard MD, Tvedten H, Turnvvald GH. (1994) Small animal clinical diagnosis bay laboratory methods.2nd Ed. Saunders Co.

Autores

Coordinadores

Arauz, María Sandra

Médica Veterinaria, Bacterióloga Clínica e Industrial Doctora en Ciencias Veterinarias. Facultad de Ciencias Veterinarias (UNLP). Capacitación Docente en Conjunción con Títulos Habilitantes. Facultad Regional La Plata de La Universidad Tecnológica Nacional. Jefe del Servicio de Central de laboratorio Hospital Escuela. Profesora Titular de la Cátedra de Análisis Clínicos Veterinarios, Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP. Coordinadora/docente del Módulo de Hematología y bioquímica clínica veterinaria en el grado 1987-2008. Coordinadora y docente del Curso Análisis Clínicos Veterinarios desde 2009 hasta la fecha. Coordinadora y docente del Módulo de Hematología y Bioquímica Clínica en la Especialidad de Diagnóstico de Laboratorio Veterinario. Docente-Investigador de Proyectos de Investigación aprobados por la Secretaria de Políticas Universitarias Ministerio de Educación de La Nación. Secretaria de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de La Plata

Scodellaro, Carla Floriana

Médica Veterinaria. Especialista en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Ex Jefe de Trabajos Prácticos en el Servicio Central de Laboratorio del Hospital Escuela de la Facultad de Cs. Veterinarias, UNLP. Directora técnica de un laboratorio de diagnóstico veterinario de pequeños animales privado.

Pintos, María Eugenia

Médica Veterinaria. Doctora en Ciencias Veterinarias. Facultad de Ciencias Veterinarias de la (UNLP). Docente Universitario Autorizado, en curso. Profesora Adjunta en Servicio Central de Laboratorio del Hospital Escuela. Cátedra de Análisis Clínicos Veterinarios, Facultad de Ciencias Veterinarias (UNLP). Docente del Curso de Análisis Clínicos Veterinarios. Docente de la Especialidad Diagnóstico Veterinario de Laboratorio de la UNLP. Docente-Investigador de Proyectos de Investigación aprobados por la Secretaria de Políticas Universitarias Ministerio de Educación de La Nación. Secretaria de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de La Plata.

Autores (por orden alfabético)

Fontana, Lorena Lucía Laura

Médica Veterinaria. Especialista en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Jefe de Trabajos en el Servicio Central de Laboratorio del Hospital Escuela. Cátedra de Análisis Clínicos Veterinarios. Docente del curso de Análisis Clínicos Veterinarios. Docente de la Especialización de Diagnóstico Veterinario de Laboratorio de la UNLP. Directora técnica de un laboratorio de diagnóstico veterinario de pequeños animales privado. Docente Investigador de Proyectos de Investigación aprobados por la Secretaria de Políticas Universitarias Ministerio de Educación de La Nación. Secretaria de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de La Plata.

Martín, Paula Lorena

Médica Veterinaria. Doctora en Ciencias Veterinarias. Especialista en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Jefe de Trabajos Prácticos del Servicio Central de Laboratorio del Hospital Escuela. Cátedra de Análisis Clínicos Veterinarios. Docente del curso de Análisis Clínicos Veterinarios. Docente de la Especialización de Diagnóstico Veterinario de Laboratorio de la UNLP. Docente-Investigador de Proyectos de Investigación aprobados por la Secretaria de Políticas Universitarias Ministerio de Educación de La Nación. Secretaria de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de La Plata

Pretti, Romina

Médica Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Especialista en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio, UNLP. Jefe de Trabajos Prácticos del Servicio Central de Laboratorio del Hospital Escuela. Cátedra de Análisis Clínicos Veterinarios y Jefe de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Patología Especial. Docente del curso de Análisis Clínicos Veterinarios, Patología Especial. Docente de la Especialización de Diagnóstico Veterinario de Laboratorio de la UNLP. Docente Investigador de Proyectos de Investigación aprobados por la Secretaria de Políticas Universitarias Ministerio de Educación de La Nación. Secretaria de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de La Plata.

Savignone, Cesar Augusto

Médico Veterinario, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Especialista en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio, UNLP. Docente Universitario Autorizado, UNLP. Profesor Titular, Universidad Católica de Cuyo, sede San Luis. Profesor Asociado, de la Cátedra de Bioquímica Facultad de Cs. Veterinarias, UNLP. Jefe de Trabajos Prácticos en el Servicio Central de Laboratorio del Hospital Escuela. Cátedra de Análisis Clínicos Veterinarios de la Facultad de Cs. Veterinarias, UNLP. Coordinador de área Básica del Conocimiento de la carrera de Microbiología Clínica e Industrial, Facultad de Cs. Veterinarias, UNLP. Docente del curso de Análisis

Clínicos Veterinarios, de la Especialidad de Diagnóstico Veterinario de Laboratorio FCV-UNLP. Docente-Investigador de Proyectos de Investigación aprobados por la Secretaria de Políticas Universitarias Ministerio de Educación de La Nación. Secretaria de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de La Plata.

Stanchi, Nestor Oscar

Médico Veterinario, Doctor en Ciencias Veterinarias, Bacteriólogo Clínico e Industrial. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Profesor Titular Cátedra de Microbiología Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP y UCCuyo. Docente-Investigador de Proyectos de Investigación aprobados por la Secretaria de Políticas Universitarias Ministerio de Educación de La Nación. Secretaria de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de La Plata.

Stornelli, María Alejandra

Médica Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de la Plata. Docente Universitario Autorizado. Doctora en Ciencias Veterinarias Facultad de Ciencias Veterinarias (UNLP). Profesor Asociado de la Cátedra de Reproducción Animal, docente de los cursos de Teriogenología, Biotecnologías de la Reproducción y Bienestar Animal. Docente-Investigador de Proyectos de Investigación aprobados por la Secretaria de Políticas Universitarias Ministerio de Educación de La Nación. Secretaria de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de La Plata.

Stornelli, María Cecilia

Médica Veterinaria. Doctora en Ciencias Veterinarias de la Facultad de Ciencias Veterinarias (UNLP). Docente Universitario Autorizado en curso. Profesora Adjunta del Servicio Central de Laboratorio del Hospital Escuela. Cátedra de Análisis Clínicos. Profesora Adjunta de la Cátedra de Reproducción. Docente de los cursos de Análisis Clínicos Veterinarios, Teriogenología y Biotecnología de la Reproducción. Docente de la Especialización de Diagnóstico Veterinario de Laboratorio de la UNLP. Docente-Investigador de Proyectos de Investigación aprobados por la Secretaria de Políticas Universitarias Ministerio de Educación de La Nación. Secretaria de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de La Plata.

Atlas de hematología veterinaria : técnicas e interpretación del hemograma en pequeños animales / María Sandra Arauz... [et al.] ; coordinación general de María Sandra Arauz ; Carla Floriana Scodellaro ; María Eugenia Pintos. - 1a ed. - La Plata : Universidad Nacional de La Plata ; EDULP, 2020.
Libro digital, PDF - (Libros de cátedra)

Archivo Digital: descarga
ISBN 978-950-34-1876-5

1. Hematología. 2. Veterinaria. 3. Animales Pequeños. I. Arauz, María Sandra, coord. II. Scodellaro, Carla Floriana, coord. III. Pintos, María Eugenia, coord.
CDD 636.089

Diseño de tapa: Dirección de Comunicación Visual de la UNLP

Universidad Nacional de La Plata – Editorial de la Universidad de La Plata
48 N.º 551-599 / La Plata B1900AMX / Buenos Aires, Argentina
+54 221 644 7150
edulp.editorial@gmail.com
www.editorial.unlp.edu.ar

Edulp integra la Red de Editoriales Universitarias Nacionales (REUN)

Primera edición, 2020
ISBN 978-950-34-1876-5
© 2020 - Edulp

n
naturales


Edulp
EDITORIAL DE LA UNLP



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA