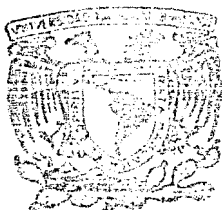


119
Zej



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"CUAUTITLAN"

GUIA DE PRUEBAS CLINICAS
HEMATOLOGICAS EN CANIDOS

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

P R E S E N T A:
MARIA GUADALUPE NELLY
VILLALOBOS VILLAGRA

DIRECTOR DE LA TESIS
MVZ. MARCO ANTONIO FAJARDO ROMAN

Cuautitlán Izcalli, Edo. de México.

1987



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E .

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
1.- Manejo del paciente, obtención y envío de muestras	5
1.1.- Manejo del paciente	5
1.2.- Obtención de muestras sanguíneas	6
1.3.- Envío de muestras sanguíneas	13
2.- Métodos para los estudios clínicos hematológicos	14
2.1.- Frotis Sanguíneo	14
2.2.- Tinción de los frotis sanguíneos.....	18
2.3.- Examen microscópico del frotis sanguíneo	23
2.4.- Hematocrito de Wintrobe	25
2.4.1.- Velocidad de sedimentación eritrocítica (VSE)	29
2.4.2.- Volumen globular (VG)	29
2.5.- Microhematócrito	30
2.6.- Determinación de hemoglobina	34
2.7.- Recuento de eritrocitos	36
2.8.- Recuento de leucocitos	42
2.9.- Índices eritrocíticos de Wintrobe	43
2.9.1.- Volumen globular medio (VGM)	43
2.9.2.- Hemoglobina globular media (HGM)	45
2.9.3.- Concentración de hemoglobina globular me- dia	45
2.10.- Pruebas hemostáticas	46
2.10.1.- Tiempo de sangrado	46

2.10.2.- Tiempo de coagulación	47
2.10.3.- Cuenta plaquetaria	48
DISCUSION	53
APENDICE	55
BIBLIOGRAFIA	58

RESUMEN .

Este trabajo consiste en una recopilación bibliográfica, referente a las pruebas clínicas hematológicas más frecuentemente empleadas en los cánidos.

Abarca una breve explicación de los métodos comunes de sujeción del paciente para la obtención de muestras sanguíneas, así como su manejo y envío. Posteriormente, se describen los métodos para realizar las pruebas rutinarias y se incluye un cuadro sobre los valores hematológicos en cánidos.

I N T R O D U C C I O N

La Medicina Veterinaria contemporánea, está bajo los efectos de un ritmo acelerado de progreso que acumula gran información - nueva, ya sea en el campo de la clínica y de la cirugía ó en la - Ingeniería Biomédica con sus instrumentos y automatizaciones. Es te proceso dinámico impone la necesidad del constante aprendizaje y la continua actualización de los conocimientos (19,20,21).

Del mismo modo; el gran desarrollo alcanzado por los análisis del laboratorio como medio de diagnóstico, ha hecho de éstos una gran arma para los médicos de hoy en día. Las técnicas disponibles nos permiten lograr datos precisos, pero éstas se han - hecho cada vez más complejas y especializadas. Para acelerar un problema diagnóstico ó terapéutico importante, ahora buscamos la ayuda de bioquímicos, biofísicos, bacteriólogos, histoquímicos, expertos en isótopos, en fin una gran variedad de especialistas. Al médico le corresponde plantearles preguntas más importantes, y reunir inteligentemente sus respuestas de manera que la historia clínica, el examen físico, la evolución y los datos de laboratorio se correlacionen lo mejor posible. Quizá no es posible que el médico domine todas las técnicas de laboratorio existentes, pero sí es recomendable que conozca suficientemente el significado de los datos de laboratorio y las peculiaridades de las técnicas para poder aplicar tales datos a un problema clínico - particular de sus pacientes (19, 20, 21).

En nuestra profesión, cada vez se requiere de más ayuda de los laboratorios de análisis clínicos para poder confirmar u - orientar sus diagnósticos (19, 20, 21).

El laboratorio de análisis clínicos representa en el proceso de fragmentación cooperativa de la medicina, un recurso eminentemente técnico, un instrumento delicado, que en manos expertas profundiza la exploración clínica, obteniendo datos de la intimidad de los tejidos y funciones de los órganos, proporcionando una información valiosa, que facilita y hace más certero el diagnóstico, pronóstico y el tratamiento de diversas afecciones. Lo anterior expuesto va a repercutir a corto ó a largo plazo en el bienestar del paciente, en el prestigio del médico y en el ahorro del propietario (22).

Sin embargo el acumulo de tanta información en ocasiones - hace difícil saber que pruebas solicitará, en que condiciones - mandar la muestra y, lo más importante, saber interpretar los - resultados obtenidos para establecer el diagnóstico acertado. Ya que si no se manejan adecuadamente estos conocimientos, no tiene ningún valor el laboratorio de análisis clínicos (3, 22).

Por lo anterior, este trabajo pretende constituir un medio de familiarización de los Médicos Veterinarios Zootecnistas recién egresados ó bien aún estudiantes con el uso de las pruebas clínicas hematológicas rutinarias en los cánidos. La importancia de la presente guía está en que es una útil aportación a la

clínica de pequeñas especies, ya que la consulta es sumamente sen-
cilla y las fuentes bibliográficas utilizadas son recientes, se
maneja un lenguaje sencillo y accesible.

1.- MANEJO DEL PACIENTE, OBTENCION Y ENVIO DE MUESTRAS.

1.1.- Manejo del Paciente.

En la obtención de muestras de sangre el adecuado manejo del paciente es importante para evitar lastimarlo, conservar la integridad física del mismo y disminuir las alteraciones que puedan afectar el resultado final de los análisis a consecuencia del estado de tensión (stress), que se provoquue en el paciente.

Una de las formas para el manejo del paciente, consiste en colocar una venda alrededor del hocico anudándola por la parte posterior de la cabeza (Fig. 1), si el animal es dócil, puede evitarse la venda y lo único que se pide es que el dueño le sujete la cabeza y le hable para tranquilizarlo. En caso de ser pacientes de talla pequeña un solo ayudante puede sujetarlo en posición de decúbito lateral derecho de la siguiente forma: Con la mano derecha toma los miembros torácicos y con la izquierda, los miembros pélvicos, los antebrazos del asistente se recargan firmemente, pero sin lastimar, sobre las regiones cervical y pélvica del paciente (Fig. 2). En caso de manejar un paciente de mayor talla es preferible que sea con la ayuda de dos asistentes. Uno se encargará de controlar los miembros torácicos y la cabeza y otro sujetará los miembros pélvicos y la extremidad caudal. Manteniendo

do en esta posición al paciente, se facilitará tomar la mayoría de las muestras necesarias (20, 21, 22).

1.2.- Obtención de Muestras Sanguíneas.

Para obtener una muestra de sangre se coloca una ligadura en el miembro torácico (cualquiera de los dos) a la altura del tercio distal del húmero, cerca de la articulación húmero-radio-cubital (articulación del codo), para resaltar la vena cefálica. El torniquete deberá aplicarse con la presión suficiente para ocluir la vena pero no las arterias que irrigan el miembro (Fig. 3). Pevio al torniquete se realiza una tricotomía de aproximadamente 1 cm^2 , justo en la zona donde vamos a introducir la aguja. La vena se localiza con el dedo índice de nuestra mano izquierda, en tanto que con el resto de los dedos se sostiene todo el miembro en tensión. A continuación se frota energicamente a todo lo largo de la vena en ambos sentidos, con una torunda de algodón impregnada en alcohol ó alcohol-éter, con dos finalidades; por una parte desinfectar la zona y evitar alguna infección local y por la otra, la fricción favorece que se palpe mejor la vena por la vasodilatación que produce el calor del frotamiento. Enseguida se toma la jeringa con la mano derecha, de preferencia cerca del pivote de la aguja y en un ángulo de aproximadamente 45 grados y con el bisel de la aguja (No. 20)

hacia arriba se introduce, en cuanto se atraviesa la piel, se coloca la jeringa casi paralela a la vena y se empuja logrando de esta forma introducir la aguja a la luz del vaso sin producir desgarres ó atravesarlos (Fig. 4) (20, 21, 22).

Posteriormente se produce un ligero vacío con el émbolo de la jeringa para verificar que la aguja se encuentra en la luz del vaso y se procede a quitar la ligadura para evitar hemoconcentraciones. Se debe jalar el émbolo a una velocidad igual al flujo de la sangre, para evitar la lisis de los glóbulos rojos, que alterarían los resultados finales de las pruebas a realizar. Para facilitar la salida continua de sangre es recomendable girar la jeringa a medida que jalamos el émbolo, también debemos evitar que se forme espuma en la misma (20, 21, 22).

Una vez obtenida la muestra de sangre (2 a 5 ml son suficientes para las pruebas rutinarias), se retira la aguja de la jeringa para vaciar el contenido en un tubo con anticoagulante. Debemos tener precaución de que no se forme espuma al estar vaciando la sangre en el tubo; la muestra tiene que estar libre de coágulos y evitar la hemólisis, por lo que deberá ser vaciada de la jeringa cuidadosamente, permitiendo que resbale

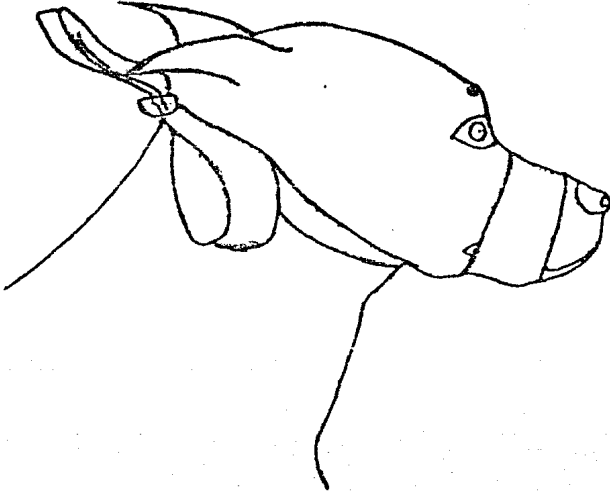


Fig. 1.- Posición de la venda alrededor del hocico del paciente.
Obtenido de W.R.KELLY. Diagnóstico Clínico Veterinario.
Ed. C.E.C.S.A. Quinta Edición. México, 1983.

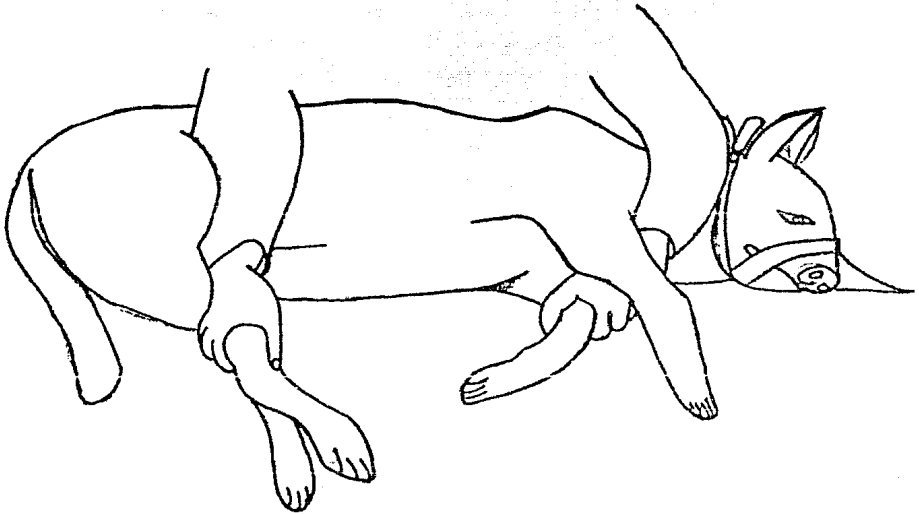


Fig. 2.- Forma en que debe sujetarse el paciente para poder obtener la ó las muestras sanguíneas necesarias. Obtenido de Hernández Pérez Alberto, toma y envío de muestras al laboratorio. Ciclo de Conferencias de Actualización en Producción Animal, F.E.S. Cuautitlán UNAM. Agosto. 1985.

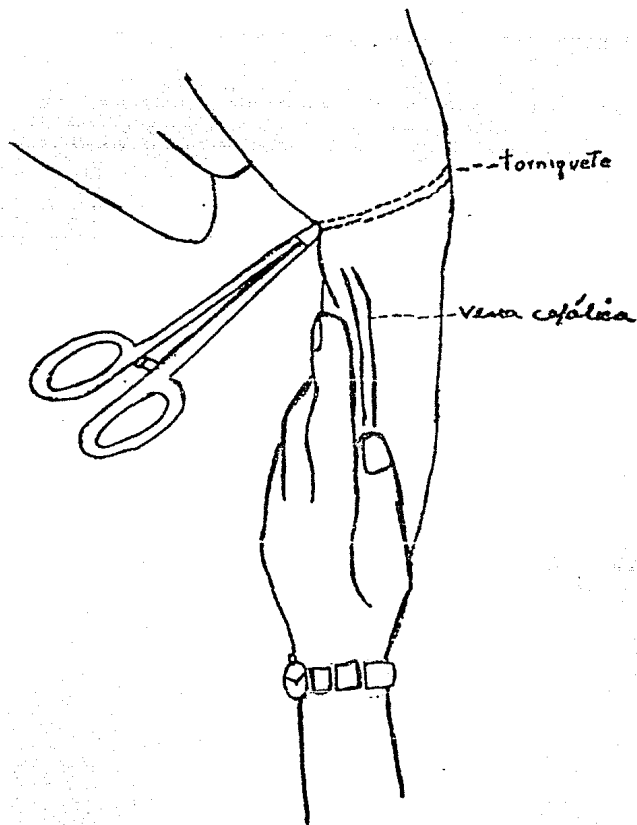


Fig. 3.- Posición del torniquete, y forma de localización de la vena cefálica con el dedo índice. Obtenido de W.R. Kelly. Diagnóstico Clínico Veterinario. Ed. C.E.C.S.A. Quinta Edición, México. 1983.

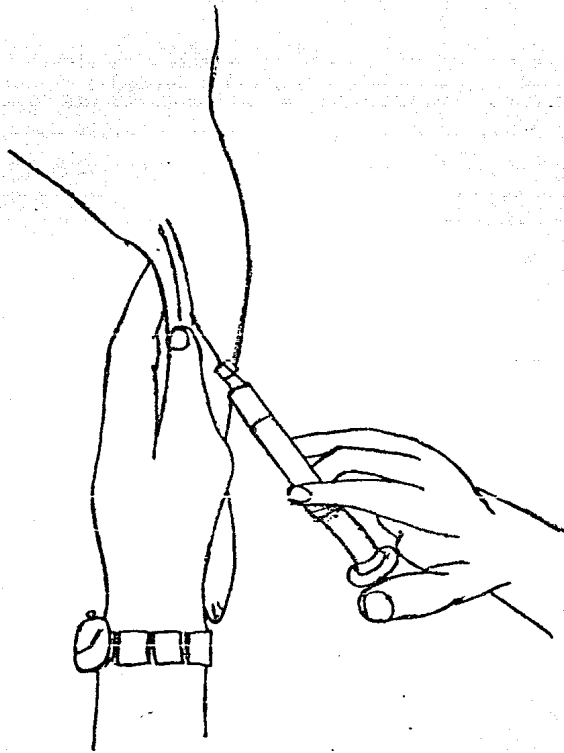


Fig. 4.- Introducción de la aguja en la vena cefálica para la obtención de una muestra sanguínea. Obtenido de W.R.Kelly. Diagnóstico Clínico Veterinario. Ed. C.E.C.S.A. Quinta Edición, México. 1983

por las paredes del tubo. Una vez vertida la sangre se tapa el tubo con un tapón de goma y se invierte suavemente sin brusquedad aproximadamente 20 veces ó las veces que sea necesario para que se mezclen perfectamente sangre y anticoagulante. La sangre completa nunca se debe congelar, ya que este procedimiento provoca lisis en las células rojas, pero de hecho si es factible conservarla en refrigeración - (8, 9, 11, 20, 22, 25).

Los anticoagulantes comunmente empleados para preservar la muestra sanguínea son los oxalatos de potasio y amonio, preparados de la siguiente manera: 0.8 g de oxalato de potasio y 1.2 g de oxalato de amonio disueltos en 100 ml. de agua destilada, de esta disolución se distribuye on cada tubo colector de sangre, 0.1 ml por cada mililitro de muestra sanguínea (30).

Otro anticoagulante que también puede ser empleado es la heparina aunque tiene el inconveniente de que dificulta la tinción de los leucocitos. Dicho anticoagulante puede emplearse en solución al 1% a razón de 0.1 ml por 5 ml de muestra sanguínea (8, 20, 31).

La sal disódica del ácido etileno diamino tetracético (EDTA) es un efectivo anticoagulante y se requiere de 0.5 a 1 mg para 5 ml de sangre. En virtud de que el

EDTA no modifica la morfología de las células sanguíneas, ni la tinción de los leucocitos, así como otros aspectos; su empleo es de mayor utilidad que los oxalatos y la heparina (8, 9, 11, 14).

Cuando se quiere determinar la glucosa ó las sustancias nitrogenadas la sangre se recoge en recipientes que contengan oxalatos ó EDTA (2).

Para determinar glucosa ó las sustancias nitrogenadas, se deben usar como anticoagulante oxalatos ó EDTA.

Cuando las muestras se van a procesar en poco tiempo, pero si se quiere preservar la muestra por 2 ó 3 días, se pueden añadir además del anticoagulante 10 mg de fluoruro de sodio y 1 mg de timol por mililitro de sangre, para así mantener estéril la muestra, con lo que se obtendrán resultados razonablemente confiables (2, 3, 5, 10, 20).

1.3.- Envío de Muestras Sanguíneas.

Si la muestra sanguínea será enviada a un laboratorio para los estudios que se estimen pertinentes, deberá tenerse cuidado de que el frasco esté perfectamente tapado, etiquetado con datos que identifiquen la muestra, a el anticoagulante empleado, la fecha y hora de recolección y adjuntar la información relativa al paciente (especie, raza, edad, sexo, peso, etc.)

al médico solicitante y a los estudios y pruebas que se soliciten (8, 31).

Cuando se han empleado oxalatos como anticoagulantes, las pruebas deben realizarse de inmediato para evitar las alteraciones que usualmente provocan en las células sanguíneas. En los casos en que se requiera de un mayor tiempo, el frasco debe refrigerarse a la temperatura de un refrigerador doméstico (4-5°C). La refrigeración permite que la muestra sea viable hasta por 24 horas después de que se ha obtenido, para realizar diferentes pruebas, tales como el recuento de eritrocitos de Wintrobe. En cambio, los frotis sanguíneos deben prepararse inmediatamente, ya que las alteraciones morfológicas de los leucocitos en presencia de oxalatos, suelen aparecer entre los 20 y 30 minutos posteriores a la mezcla de la sangre con el anticoagulante (8, 9).

Todos los inconvenientes antes señalados, pueden evitarse si los oxalatos son sustituidos por el EDTA (8).

2.- METODOS PARA LOS ESTUDIOS CLINICOS HEMATOLOGICOS.

2.1.- Frotis Sanguíneo.

Se requiere sangre fresca para hacer la extensión, - cuando se ha empleado como anticoagulante el EDTA.

Los portaobjetos deberán prepararse en los 15 minu-

tos siguientes a la obtención de la muestra, y las técnicas de uso frecuente se describen a continuación (2, 3, 31).

Existen dos técnicas para efectuar el frotis sanguíneo:
a) La técnica con portaobjetos y b) La técnica con cubreobjetos (2, 3, 8, 9).

a) Técnica con Portaobjetos.

Se seleccionan varias laminillas de vidrio limpias, libres de grasa y cuyos extremos estén listos. Una de las laminillas, se coloca sobre una superficie horizontal, y se coloca en ella una gota pequeña de unos 2 - centímetros del extremo derecho de la lámina, equidistante de los bordes largos de la misma. Posteriormente, se sostiene dicha laminilla por su extremo izquierdo mediante los dedos pulgar e índice de la mano izquierda haciendo presión hacia abajo. Con la mano derecha se sostiene otra laminilla para con ella extender la sangre sosteniéndola por su extremidad derecha y colocándola sobre la otra a modo de formar un ángulo agudo entre ambos. Se desliza la lámina encargada de extender hasta que su borde entre en contacto con la gota de sangre. Esperando en este momento que la sangre se difunda por capilaridad en dicho ángulo. Antes de que la gota alcance los bordes de la lámina horizontal se desplaza la lámina extensora hacia la

izquierda con un movimiento rápido (Fig. 5) (3, 8, 9, 31).

Cuando se ha verificado dicha extensión, es conveniente acelerar el secado del frotis mediante un poco de calor ó una corriente de aire. El secado rápido tiene como finalidad evitar la crenación y fragmentación de los eritrocitos (8, 9).

Posteriormente debe identificarse la preparación, teñida inmediatamente y depositarla en una caja bien cerrada (2, 3, 8, 9, 31).



Fig. 5.- Técnica de Portaobjetos para frotis sanguíneo (Vista lateral). Obtenido de Benjamín M. Manual de Patología Clínica Veterinaria. Ed. LIMUSA. 1984.

b) Técnica con Cubreobjetos (Fig. 6).

Los cubreobjetos nuevos (22 x 22 mm y No. 1 ó 1.5 de grosor) pueden guardarse en alcohol hasta que se vayan a usar; luego se secan con un lienzo limpio. Al manipularlos sólo deberán tocarse los extremos. Se coloca una pequeña gota (2 a 3 mm de diámetro) de sangre en el centro del cubreobjetos. Se toma un segundo cubreobjetos en posición diagonal sobre el primero, de tal manera que los dos cubreobjetos sobrepuestos forman un octógono, la sangre se extenderá entre los dos dedos por acción capilar. Una vez que se ha terminado de extender la sangre, se sostienen las esquinas que sobresalen de los cubreobjetos y se separan con un movimiento paralelo ó lateral firme. No deberá jalarse hacia arriba ni permitir que se formen cavidades porque se producirá una distribución dispareja de las células. Se dejan secar ambos frotis en el aire. El cubreobjetos que contiene la sangre puede colocarse en una rejilla ó un frasco especial para tinción ó en un tapón invertido, fijado a la parte inferior de un recipiente por medio de parafina. Los Leucocitos se distribuyen de manera má uniforme en un buen frotis de cubreobjetos que en uno de portaobjetos para extender (1, 2, 5, 8, 11).

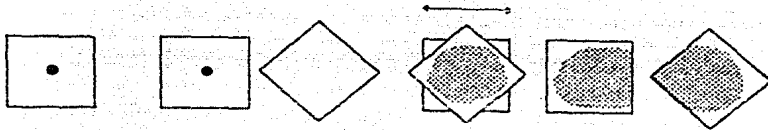


Fig. 6.- Método de Cubreobjetos. Obtenido de Benjamín, M.:
Manual de Patología Clínica Veterinaria. Ed. LIMU-
SA. 1984.

2.2.- Tinción de los Frotis Sanguíneos.

Existen diversos tipos de tinciones para analizar los frotis sanguíneos, así por ejemplo tenemos las siguientes:

- 1) Tinción del tipo Romanowsky
- 2) Tinción de Wright
- 3) Tinción de Giemsa
- 4) Tinción de Leishman
- 5) Tinción de Wright-Giemsa (modificada de Wright)
- 6) Tinción de Wright-Leishman
- 7) Tinción de May-Grünwald-Giemsa (2, 9, 10, 25)

Por ser las más comunes, se describen la Tinción de Wright y la Tinción de Giemsa.

a) Tinción de Wright.

La tinción de Wright existe en el mercado en dos formas, ya sea en polvo seco ó bien en solución lista para usarse, ésta última es la más conveniente pero en ocasiones se descompone porque el distribuidor la almacena por mucho tiempo (2, 9, 10).

La forma de preparación de la tinción es como sigue:

Se ponen en un mortero 0.5 g de polvo de la tinción de Wright seca (certificada), se le agregan al colorante de mortero 300 ml de alcohol metílico absoluto (que no contenga acetona ni ácido acético), poco a poco, al mismo tiempo en que se tritura la mezcla y se pone el sobrenadante en un frasco obscuro seco. El alcohol se le agrega hasta que todo el colorante esté en solución y cantidad total del alcohol medido se haya usado. Se agita el frasco diariamente por dos semanas, luego se filtra, la tinción tarda de dos a cuatro semanas para que esté lista para usarse (2, 9, 10).

Método de Tinción.

El frotis de sangre seco se cubre completamente con la tinción de Wright y se deja reposar por 3 minutos.

- La tinción alcohólica no diluida actúa principalmente como fijador debido a que ésta tiene propiedades mínimas antes de la dilución que se limitan a cier-

ta tinción de los elementos neutros.

- La selección del tiempo variará dependiendo de la potencia de cada lote de tinción.
- La rejilla debe estar nivelada para evitar la acumulación de colorante en uno de los extremos de la laminilla (2).

Cuando se ponen varias laminillas en una misma rejilla debe tenerse cuidado de que no se toquen unas con otras porque la tinción puede derramarse. Se agrega igual cantidad de agua destilada amortiguada ó agua "neutra" (pH 6.6 a 6.8 para la mayor parte de la sangre de animales), la cual se distribuye sobre todo el frotis, teniendo cuidado de que la solución no se corra sobre los bordes (2).

Se deja reposar la mezcla por 3 a 5 minutos. Deberá aparecer una espuma metálica de color verde. La disociación parcial del colorante compuesto se lleva a cabo por la adición del agua, produciendo un colorante libre de ácidos (eosina) y azul de metileno libre de álcalis y sus derivados (2, 22).

La tinción de Wright y el agua pueden mezclarse uniformemente soplando suavemente sobre la superficie (2).

La espuma metálica se elimina con un chorro de agua de un frasco para lavado ó con agua de la llave. Cuan

do el agua de la llave es alcalina, usar agua destilada. No hay que quitar el colorante de la laminilla antes de lavarla porque se formará un precipitado. Hay que lavar perfectamente el colorante, pero sin exagerar porque se aclara la tinción. Se limpia el colorante de la parte posterior de la laminilla ó del cubreobjetos con un trapo limpio cuando todavía está húmedo porque si se deja secar, será preciso usar alcohol para quitar el colorante seco. Se coloca la laminilla en posición vertical, se ondea ligeramente en el aire ó se le pone encima un papel absorbente para que seque (2, 25).

Los frotis de las preparaciones teñidas con cubreobjetos pueden examinarse colocando una gota de aceite en un portaobjetos y poniendo el cubreobjetos teñido hacia abajo. Cuando se desea una preparación permanente, el aceite puede disolverse con xilol y aplicarse un medio de montaje como el perount ó el bálsamo de Canadá (2, 3, 4, 9, 10, 25).

b) Tinción de Giemsa.

El colorante de Giemsa tiene diversos compuestos azules con eosina y azul de metileno, en lugar de los colorantes policromados empíricamente que se usan en la tinción de Wright. Es un colorante excelente para muchos parásitos de la sangre y para los cuerpos de inclusión y produce resultados uniformes. En los frotis

sanguíneos tiñe bien los gránulos rojos (azurófilos) pero los gránulos neutrófilos y los eritrocitos no se tiñen bien, por esta razón, con frecuencia se incorpora en tinciones combinadas como la Wright-Giemsa ó la de May-Grünwald-Giemsa. Las soluciones comerciales de tinciones para sangre de Giemsa son las más recomendadas, ya que permanecen estables por tiempo indefinido (1, 2, 9).

Método de Tinción.

El frotis seco se coloca en un frasco de Coplin que con tenga alcohol metílico absoluto durante 3 minutos para fijar dicho frotis, se escurre el alcohol y se deja secar la laminilla. Se cambia la laminilla a un segundo frasco y se deja teñir por 15 a 60 minutos. Puede prepararse diariamente un volumen de colorante de Giemsa comercial en 9 a 25 volúmenes de agua destilada (pH 6.8) dependiendo del tiempo deseado para la tinción. Para que se aprecien las inclusiones puede ser necesario dejar los frotis de 12 a 18 horas, mientras que cuando se supone la presencia de parásitos sanguíneos se requiere de un período de tinción de sólo 60 minutos. Es mejor diluir el colorante en un frasco que se haya usado cong tantamente para la tinción de Giemsa ya que el colorante residual del recipiente es favorable. Para limpiar el precipitado del frasco, se enjuaga con agua calien-

te de la llave, en lugar de usar solución limpiadora ó detergente (2, 10, 15).

El colorante de Giemsa diluido debe prepararse inmediatamente antes de usarse; es estable sólo por unas cuantas horas, después las tinciones se aceleran y puede aparecer el precipitado (2, 4, 10).

2.3.- Examen Microscópico del Frotis Sanguíneo.

El frotis sanguíneo se observa con el objetivo de poco aumento para ver la distribución de las células y seleccionar la porción del frotis que esté cerca del extremo más delgado, donde los eritrocitos no se sobreponen. Se cambia al objetivo de inmersión en aceite para proceder al análisis del frotis (1, 2, 8, 10, 25).

En los eritrocitos debe apreciarse el tamaño, la forma y el color que pueden encontrarse alterados en una amplia diversidad de estados patológicos. Debe determinarse también la presencia de reticulocitos (eritrocitos jóvenes ó inmaduros) (2).

Por lo que respecta a los glóbulos blancos ó leucocitos se debe observar también la forma, el tamaño, la morfología del núcleo (2).

La cuenta leucocitaria diferencial se hace contando y clasificando por lo menos 100 leucocitos. Cuando la

cuenta leucocitaria total está muy elevada ó cuando hay una distribución anormal deberán contarse más para unificar criterios (25, 31).

Existe tendencia de los neutrófilos a ser más abundantes lo largo de los márgenes de los frotis hechos con laminilla, mientras que las otras variedades de leucocitos tienden a encontrarse a corta distancia del margen. Los monocitos y los eosinófilos se distribuyen a todo el frotis. Al área central de la laminilla por lo general carece de células debido a la marginación de los leucocitos, excepto cuando la cuenta total es muy elevada (2, 5, 7, 8, 31).

Para dar una muestra representativa de todas las porciones del frotis, el examen de los extremos y el uso del método de Battlement, ó ambos, se procede de la siguiente manera: Se empieza con el examen a lo largo del margen externo del frotis por aproximadamente 3 campos, se mueve un poco hacia adentro (1 mm ó 3 campos), luego se mueve en forma paralela del margen por 3 campos y posteriormente hacia atrás, a la orilla del frotis (Fig. 7).

Se repite el procedimiento cuantas veces sea necesario identificar el número de células requerido.

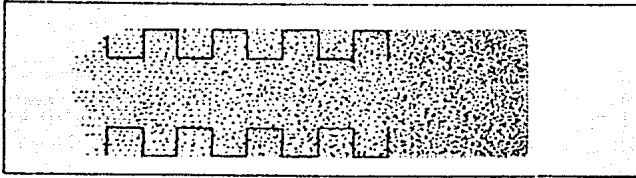


Fig. 7.- Examen microscópico del frotis sanguíneo. Obtenido de Benjamín, M.: Manual de Patología Clínica Veterinaria. Ed. LIMUSA. 1984.

2.4.- Hematócrito de Wintrobe.

El término de "hematócrito", significa separación de la sangre. Por centrifugación de la sangre se separan tres estratos diferenciables:

- a) La masa de eritrocitos en el fondo llamada volumen globular (VG).
- b) Un estrato blanco de leucocitos y trombocitos localizada inmediatamente por encima del VG.
- c) El plasma sanguíneo (2, 8).

El hematócrito de Wintrobe es un tubo de calibre uniforme (5 mm) y el fondo plano calibrado longitudinalmente en 10 cm ó 100 mm (Fig. 8) (2).

Los números de la columna derecha se leen de 0 a 10 y se usan para las determinaciones del volumen del paquete-

te celular (VPC). Los números de la izquierda de la escala se leen hacia abajo de 0 a 10 y se usan para el índice de sedimentación eritrocítica. Cabe señalar que para este caso, dado que no se están realizando mediciones volumétricas, el volumen detenido en el tubo no tiene importancia (1, 2, 22, 23, 34).



Fig. 8.- Tubo de Hematocrito de Wintrobe. Obtenido de Benjamín, M.: Manual de Patología Clínica Veterinaria. Ed. LIMUSA. 1984.

La determinación del hematocrito de Wintrobe, se realiza por el siguiente método (2, 8, 25, 27, 30).

- Se extrae 1 ml de sangre venosa en una jeringa seca y se coloca en un tubo que contenga la cantidad exacta del anticoagulante indicado para la cantidad de sangre, esto ya se mencionó anteriormente, ó bien se llena un tubo de Vacountainer. Se agita el tubo inmediatamente para evitar la coagulación. El llenado parcial del tubo de Vacountainer produce una fuente de error común, porque el exceso de EDTA encoge los eritrocitos (2, 8, 25, 27, 30).
- Cuando el tubo de hematocrito está listo para llenarse, la sangre deberá agitarse bien para asegurar una suspensión uniforme de las células (2, 8, 25, 27, 30).
- Se vierte la sangre en el tubo para hematocrito de Wintrobe por medio de una pipeta de Wintrobe especial, ó de una pipeta de transferencia desechable que tiene el largo suficiente para llegar hasta el fondo del tubo. Primero se inserta la punta en el fondo del tubo y se va secando lentamente, a una velocidad que impida la formación de burbujas; esto se logra manteniendo la punta por debajo del nivel de sangre (25, 27, 28, 30).

- Se llena hasta la marca 10 del lado derecho; procurando no sobrepasar esta marca (2, 8, 25).
- No es necesario tapar el tubo cuando éste se ha llenado exactamente hasta la marca 10 pues la evaporación afectará solamente el plasma (2, 8, 30).

Acto seguido se centrifuga a una velocidad que proporciona una fuerza centrífuga relativa de $2260 \times$ Densidad lo cual por lo general es suficiente para proporcional el paquete máximo (2).

El tiempo necesario para lograr un paquete máximo y un atrapamiento mínimo del plasma entre las células varía de acuerdo a las especies, en cónidos es aproximadamente de 30 minutos.

Posteriormente se lee la escala de la parte superior del paquete de eritrocitos que están inmediatos a la capa flogística. Se multiplican los números grandes por 10, ya que el Volumen del Paquete Celular (VPC) se reporta como porcentaje (8, 11, 25, 28, 31).

El tubo de hematócrito se limpia más fácilmente insertando un limpiador para pipetas de Wintrobe en forma de U, aplicando succión y manteniendo simultáneamente el tubo bajo el agua. Luego se retira el agua del hematócrito y se saca el agua que queda dentro por medio de succión. El secado completo se logra colocando

el tubo en posición invertida; puede usarse acetona para acelerar el proceso (8, 11, 25, 28, 31).

2.4.1.- Velocidad de Sedimentación Eritrocítica (VSE).

El fundamento de esta prueba, se basa en que la sangre es una suspensión de elementos, estructuras ó sistemas individuales, cada uno cumpliendo sus funciones en el plasma, por lo que la sedimentación de los glóbulos es un fenómeno que se observa siempre en una muestra de sangre que se ha hecho incoagulable y en y en posición vertical, dado que por gravedad son más pesados que el plasma, pero la rapidez de esta sedimentación puede ser variable por el cambio de las propiedades fisicoquímicas del plasma. La determinación de la VSE es útil para el diagnóstico en procesos infecciosos u orgánicos así como para seguir su evolución, en donde estas propiedades se ven alteradas (28).

La caída de los eritrocitos se mide en tubos de Wintrobe y se expresa en mm durante el lapso de una hora (31).

2.4.2.- Volumen Globular (VG).

El volumen globular (VG) depende del tamaño y número de eritrocitos por unidad de volumen de sangre. Con fines prácticos para establecer el valor normal del

volumen globular en cáñidos, como en cualquier otra especie; los valores normales de la hemoglobina se multiplican por tres. Es decir, en cáñidos el valor normal de la hemoglobina normalmente aceptado es de 12 a 17 g por 100 ml de sangre, por lo que el volumen globular en milímetros correspondería de 36 a 51 (2).

La interpretación clínica del VG es como sigue: Si el VG está aumentado se dice que hay una hemoconcentración, esto puede deberse a una ingestión deficiente de líquidos, a ayunos prolongados ó a un aumento en la pérdida de líquidos, a un trabajo excesivo de la médula. Si el VG está disminuido podemos sospechar de una hemólisis de tipo parasitario ó bien de tipo inmunológico, de daño hepatocelular acompañado de anemia, depresión de médula ósea (2).

2.5.- Microhematócrito.

Las ventajas que ofrece el microhematócrito sobre el método de Wintrobe, consiste en que los valores del VG, son más exactos y constantes, el tiempo necesario para llevar a cabo este método es muy corto (hormonalmente menos de cinco minutos), y la cantidad de sangre requerida es muy pequeña. Sin embargo, el microhematócrito requiere de un instrumento especial para hacer las lecturas y los valores de la velocidad de

sedimentación globular y el índice ictérico no son tan fáciles de observar porque se emplea un tubo capilar (1, 21).

El método del microhematócrito consisten en los siguientes pasos: Cuando la sangre ya contiene anticoagulante se toma una porción en un tubo capilar liso (75 mm x 1.0 mm) y se llena aproximadamente hasta un centímetro del borde. Si la muestra sanguínea se toma de la oreja, del labio, de la uña ó del dedo, se deben emplear tubos heparinizados. Se sostiene el tubo en una posición semi-horizontal para facilitar el llenado y se seca la sangre que queda por fuera del tubo cuando todavía está húmedo (1, 3, 5, 7, 10, 13, 14, 17).

Posteriormente se sella el extremo libre del tubo capilar con arcilla, plástico especial, taponos de plástico ó acercándolo a la flama en un mechero de propano ó bien a un simple cerillo (teniendo cuidado de no calentar la sangre) (2, 3, 8, 25).

Es preferible usar tubos capilares que tienen un extremo pulido al fuego y por lo general se identifican por un color en ese extremo. Sellando este extremo se evita gran parte del escurrimiento que se presenta con un extremo que no está liso (2, 3, 8, 25).

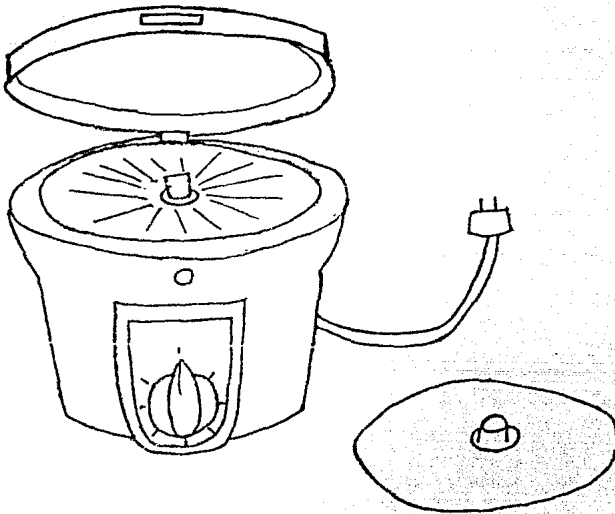


Fig. 9.- Centrifugadora para Microhematócrito. Obtenido de Kelly; Diagnóstico Clínico Veterinario, México. Ed. C.E.C.S.A. Quinta edición. 1983.

La mayor parte de las marcas de centrífuga para hematócrito (Fig. 9) tienen una placa que las cubre, aunque en ocasiones no la tienen. Posteriormente se colocan los tubos en la cabeza de las ranuras de la centrífuga que tienen los extremos abiertos hacia el centro y los extremos sellados más cerca del margen de la cabeza, para evitar que los tubos se rompan mientras se están centrifugando (2, 8).

Es necesario tener bien identificados los tubos, ya que son muy pequeños para poder marcarlos; (anotando el número de la ranura de los tubos respectivos) (2, 8, 10).

Se reemplaza la cubierta de seguridad y se efectúa la centrifugación por 5 minutos a 10,000 a 13,000 Xg ó por 2 minutos a 16,000 Xg ó más (2).

Al concluir la centrifugación, se retiran los tubos. La lectura del valor del hematócrito en el tubo capilar (75 mm). Consiste en una escala lineal que compensa la cantidad variable de sangre en todos los tubos, excepto en los calibrados que se usan en la centrífuga Clay-Adams-Readacrit (2, 8, 10, 25).

Cuando se usa la carta ó cuadro lineal, ó la lectura gráfica, se necesita colocar el tubo del hematócrito en la escala con el mecanismo del plasma en la línea superior. Se desliza el tubo hasta el fondo de la -

capa de eritrocitos que corresponda con la línea de cero (2, 8, 10, 25).

La línea que intercepta la parte superior de la capa de eritrocitos se sigue hasta el punto donde pueda leerse en la escala al final de la línea (2, 25, 28, 31).

Cuando se han empleado tubos capilares más pequeños (de 32 mm) la lectura se hace en el lector de microhematócrito, para obtener en los mismos términos el volumen en porcentaje del paquete celular, la profundidad de la capa leucocitaria y el espesor del plasma (2, 7, 12).

2.6.- Determinación de Hemoglobina.

La hemoglobina es una cromoproteína a la cual se debe la capacidad para transportar el oxígeno por parte de los eritrocitos.

Existen varios métodos para cuantificar la hemoglobina:

- a) Colorimetría
- b) Métodos gasométricos
- c) Métodos químicos.

Nos limitaremos a describir el método colorimétrico.

La hemoglobina contenida en la sangre, por la agregación de una solución reactiva se transforma cuantitativamente en Oxihemoglobina, las diversas hemoglobinas tienen espectros de absorción (D.O. densidad óptica).

tica) característica, y por ello pueden determinarse fácilmente con el espectrofotómetro ó con el fotocolorímetro. Así la oxihemoglobina tiene un máximo de absorción de luz de 578 nm y por lo tanto si hay mayor absorción es mayor la concentración de oxihemoglobina (15, 18, 24).

El método colorimétrico consisten en lo siguiente: Se colocan 5 ml de oxihemoglobina en un tubo de ensayo y se agrega .02 ml (20 mm) de sangre heparinizada con pipeta de Sahli. Se mezcla bien la muestra para homogeneizarla (2, 3, 8, 10, 25).

Se toma la lectura de absorbancia (D.O) de la muestra en el espectofotómetro contra B (Esto es calibrar el aparato a cero, luego introducir la solución blanco y calibrar con ella hasta que deje pasar el 100% de luz, sacar el blanco, introducir la muestra y anotar la densidad óptica). Todo esto a una longitud de onda de 579 nm. Se debe leer de preferencia una vez que esté listo el aparato (11, 17, 31).

La fórmula para calcular la hemoglobina globular media es la siguiente: $Hb - No. \text{ de g.r.} = HGM$

Hb = Hemoglobina

g.r. = glóbulos rojos

HGM = Hemoglobina globular media (3)

2.7.- Recuento de Eritrocitos.

Para el recuento de eritrocitos (así como de leucocitos), se emplea el hemocitómetro que consiste en una pipeta para diluir las células y una cámara de recuento. Los procedimientos que deben seguirse implican el llenado de la pipeta diluyente y el conteo de células en la cámara respectiva (31).

Para el llenado de la pipeta diluyente, se puede usar sangre fresca, sin coagular ó con anticoagulante. La sangre con coagulante deberá mezclarse con cuidado invirtiendo el tubo por lo menos 20 veces, sin agitar vigorosamente. Para asegurar la dispersión uniforme de las células de la sangre puede usarse un tubo giratorio; en esta forma se evita una fuente de error frecuente (31).

Después de haber colocado la pieza de caucho a una pipeta para dilución de eritrocitos de Thoma (Fig. 10), que se identifica por la marca 101 por encima del bulbo, se extrae la sangre exacta hasta llegar a la marca 0.5, usando una succión suave en la pieza de boca (31).

Cuando se extrae sangre de más que sobrepase ligeramente la línea es permisible expeler el exceso por medio de pequeños golpes sobre la punta de la pipeta con el dedo (31).

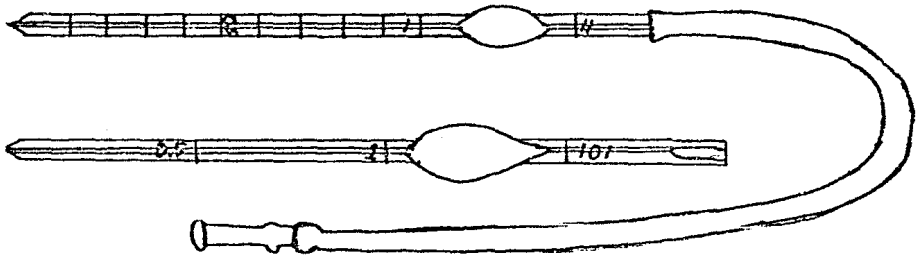


Fig. 10.- Pipeta de Thoma para la dilución de muestras de sangre. Obsérvese que la pipeta para glóbulos rojos tiene marcas en 0.5, 1.0 y 101 con objeto de proporcionar diluciones de sangre del 1 por 200 y el 1 por 100 respectivamente. La pipeta para glóbulos blancos tienen marcas en 0.5, 1.0 y 11, que dan diluciones del 1 por 20 y 1 por 10 respectivamente. Obtenido de Benjamin. Manual de Patología Clínica Veterinaria. Ed. LIMUSA. 1984.

La sangre que queda en la punta de la pipeta deberá sacarse antes de insertarla en el líquido diluyente que puede ser solución salina isotónica que se encuentra con facilidad y es la que se recomienda ya que evita el apiñamiento que se asocia con otros diluyentes. También puede emplearse solución de Hayem ó de Gower (31).

El líquido diluyente debe introducirse a la pipeta con succión uniforme hasta la línea 101 por encima del bulbo se gira suavemente mientras se llena (31).

La sangre se diluye en una proporción de 1:200. Posteriormente se pone la pipeta en posición horizontal y se tapa la punta con un dedo antes de retirar la pieza de caucho.

La pipeta debe agitarse por lo menos 2 a 3 minutos de preferencia en un agitador mecánico.

Cuando la pipeta se va a agitar manualmente, ésta deberá mantenerse en posición horizontal entre los dedos pulgar y medio y con un simple movimiento de la muñeca se forma una curva de un cuarto de círculo ó una figura en ocho.

Es un grave error agitar en dirección longitudinal al eje ya sea manual ó mecánicamente, ya que las células

se quedan en la base por gravedad (2, 3, 7, 9, 11, 14, 20, 25, 31).

Para proceder a la cuenta de eritrocitos cabe destacar que el área graduada del hemocitómetro y el cubreobjetos especial deberán limpiarse cuidadosamente, quitando la pelusa y la grasa (31).

Se coloca el cubreobjetos especial con los extremos más largos paralelos y sobre los bordes de apoyo de la cámara contadora; el cubreobjetos se maneja sólo en los extremos largos (2, 3, 31).

Se descarta por lo menos una tercera parte del contenido de la pipeta, secando la punta para que el líquido no se adhiera. Con esto se elimina el líquido de la porción capilar de la pipeta que no se ha mezclado con la sangre (2, 3, 31).

Con el líquido sobre el extremo superior de la pipeta, se toca con la punta el espacio que se encuentra entre la cámara y el cubreobjetos. El líquido llenará el espacio por capilaridad; cuando el líquido ha fluido las tres cuartas partes de la pipeta, se saca ésta pues ya habrá quedado suficiente líquido para llenar el espacio (2, 3, 25, 31).

Cuando el líquido se derrama, las células salen del fondo y hay que volver a llenar la cámara(2).

Se esperan 3 minutos para que las células se sedimenten y deberá evitarse la evaporación para no introducir un grave error (2, 3).

Con el objetivo de poco aumento (10 X) se localiza el cuadro central de los 9 cuadros grandes. Se observa la distribución uniforme de las células (Fig. 11).

Con el objetivo de un gran poder (40X) se cuentan todos los eritrocitos en 5 de los 25 cuadros pequeños del área central (2, 3, 31).

Cada uno de los 5 cuadros pequeños que se van a contar está limitado por líneas dobles ó triples, y se dividen en 16 cuadros más pequeños. Se cuenta con un total de 80 cuadros pequeños (2, 3, 10, 25, 31).

Se cuentan las células empezando a la izquierda de la fila superior de los cuadros pequeños, luego de derecha a izquierda en la siguiente fila y así sucesivamente. Hay que evitar la duplicación al contar las células se tocan las líneas (2, 3, 10, 25, 31).

En la tercera línea, se cuentan las células que toquen líneas internas superior a la izquierda, no se cuentan las células que toquen las líneas internas inferior y derecha (2, 3, 10, 25, 31).

En la línea doble, se cuentan las células que toquen las líneas externas superior e izquierda. No se - -

Una variación de más de 25 células entre cualquiera de los 5 cuadros que se contaron indica una distribución dispereja por lo que la cuenta deberá desecharse y llenarse nuevamente, el hemocitómetro con una gota fresca de líquido de una pipeta que se haya vuelto a agitar (2, 3, 9, 11, 14, 20, 25, 31).

2.8.- Recuento de Leucocitos.

Para el llenado de la pipeta se sigue la misma técnica descrita para la cuenta eritrocítica excepto que la pipeta de dilución tiene la marca II por arriba del bulbo. El calibre de la pipeta para leucocitos (Fig. 10) es mayor que el de la pipeta para glóbulos rojos, lo que favorece su uso adecuadamente, y hace que se requiera de mayor cantidad de sangre. Se extrae la cantidad exacta de sangre hasta la marca 0.5 y se seca la que queda en la parte externa (2, 3, 5, 10, 20, 25, 31).

Se coloca la pipeta en el líquido para diluir leucocitos y se llena lentamente hasta la marca II que está por arriba del bulbo. Esto proporciona una dilución de 1:20. Se agita por tres minutos para que se mezcle bien (2, 3, 5, 10, 20, 25, 31).

Para la cuenta de leucocitos; se desechan 2 a 3 gotas de la pipeta antes de llenar la cámara contadora, se deja por lo menos un minuto para que los eritrocitos

se lisen y que los leucocitos se sedimenten (2, 3, 5, 10, 20, 25, 31).

Con el objetivo de poco aumento de (10X) se cuentan las células de cada uno de los 4 cuadros grandes de las esquinas (Fig. 11). Para que puedan detectarse los leucocitos como objetos uniformes oscuros, es necesario reducir la iluminación lo más que se pueda (2, 3, 5, 10, - 20, 25, 31).

La regla para excluir las células que tocan las líneas es la misma que se usa para la cuenta de eritrocitos. Cuando existe una variación de más de 15 células entre cualquiera de los 4 cuadros que se contaron, indica una distribución dispareja en cuyo caso deberá descartarse la cuenta (2, 3, 4, 10, 20, 25, 31).

2.9.- **Índices Eritrocíticos de Wintrobe.**

El volumen de glóbulos rojos aglomerados del hematócrito, el número de eritrocitos por milímetro cúbico de sangre y la cantidad de hemoglobina en gramos por ciento, son datos fundamentales para calcular estos índices.

2.9.1.- **Volumen Globular Medio (VGM).**

El volumen globular medio es una medida de masa del eritrocito en forma individual, no siendo lo mismo que el tamaño del eritrocito (2, 3, 7).

El volumen globular medio, expresa el volumen promedio del eritrocito individual y se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{VGM} = \frac{\text{VGA} \times 10}{\text{Cuenta eritrocítica (millones/microlitro)}} = \text{femtolitros}$$

Siendo VGA.- Volumen globular aglomerado del hematócrito. El resultado expresa en volumen medio del eritrocitos en femtolitros (2).

La interpretación clínica del VGM es bien importante ya que nos ayuda a determinar si una anemia es de tipo normocítica ó macrocítica por ejemplo:

VGM normal: normocítica

- a) Hemorragia aguda
- b) Hemólisis
- c) Ausencia de formación de sangre (2).

VGM Aumentado: macrocítica

- a) Aumento de la actividad de la médula ósea en ciertos estados que se asocian por lo general con anemia normocítica como la hemorragia aguda y la hemólisis (2).
- b) Algunas deficiencias de factores hematopoyéticos (2).

Entendemos por anemia como una disminución por debajo de la cantidad normal de eritrocitos por microlitro, del valor de la hemoglobina y del volumen del

paquete celular (VPC) (2).

2.9.2.- Hemoglobina Globular Media (HGM).

Es el promedio de la cantidad de hemoglobina contenida por eritrocitos. Como se comprenderá, la cantidad de hemoglobina que contiene un eritrocito es demasiado pequeña, y vendría siendo $Ig \times 10^{-12}$. Por lo tanto es un parámetro calculado por fórmula, que es la siguiente (2).

$$HGM = \frac{\text{Hemoglobina g/dl} \times 10}{\text{cuenta eritrocítica (millones/microlitro)}} = \text{picogramos}$$

HGM = Hemoglobina globular media (31).

El resultado se expresa en picogramos (pg) (2).

2.9.3.- Concentración de Hemoglobina Globular Media (CHGM).

La concentración de Hemoglobina Globular Media es la concentración de hemoglobina en el eritrocito promedio ó la proporción del peso de la hemoglobina y el volumen en el cual está contenido; se calcula con la siguiente fórmula:

$$CHGM = \frac{\text{Hemoglobina (g/dl)} \times 100}{VGA} \quad (2)$$

El resultado se expresa en gramos por decilitro - -
(g/dl) (2).

Interpretación Clínica.

CGHM normal: normocítica

- a) En muchos tipos de anemia un aumento ó disminución en el tamaño promedio de la célula se acompaña de un aumento ó disminución correspondiente del pro-

medio del contenido de hemoglobina por lo que la CHCM se mantiene dentro de límites normales (2).

CHCM disminuída: hipocrómica

- a) En la anemia hipocrómica verdadera de reducción de la hemoglobina es relativamente mayor que la disminución promedio del volumen eritrocítico (2).

CHCM aumentada.

- a) No existe padecimiento en el cual la CHCM aumente más que el promedio normal, ya que el eritrocito no puede estar sobresaturado de hemoglobina(2).
- b) En la anemia hiperocrómica hay un aumento en el peso de la hemoglobina del eritrocito promedio, pero la concentración de hemoglobina por unidad de volumen no aumenta (2).

2.10.- Pruebas Hemostáticas.

Las pruebas rutinarias rápidas para determinar si el mecanismo hemostático de la coagulación sanguínea se encuentra íntegro, comprenden el tiempo de sangrado, el tiempo de coagulación y la cuenta plaquetaria (2, 3, 25, 31).

2.10.1.- Tiempo de Sangrado.

El tiempo de sangrado es el lapso que transcurre para que deje de sangrar una pequeña herida estandarizada (2, 3, 5, 25, 31).

Para determinarlo se hace una punción pequeña y profunda en la piel con la lanceta u otro objeto como una navaja de Bard-Parken No. 11 y se anota el tiempo cuando aparece por primera vez la sangre (2).

El uso de un papel altamente absorbente como los pañuelos de limpieza tiende a prolongarse el tiempo de sangrado debido a que quita la sangre de la superficie con mayor eficacia (2, 3, 5).

Cuando ya no aparece sangre en el sitio de la punción, se anota el tiempo final (1, 2, 7, 17, 25, 31).

2.10.2.- Tiempo de Coagulación.

El tiempo de coagulación es el lapso necesario para que la sangre venosa, en ausencia de todos los factores tisulares, coagule en tubos de vidrio bajo condiciones controladas. Los métodos existentes para determinar el tiempo de coagulación a continuación se describen (2, 3, 5, 20, 25, 31).

Método de Lee White para la determinación del tiempo de coagulación, se obtienen por lo menos 3 ml de sangre en una jeringa de plástico, teniendo cuidado al hacer la punción venosa. Se enciende un cronómetro tan pronto como la sangre entra en la jeringa. Se pone 1 ml de sangre en cada uno de tres tubos de ensayo (10 x 75 mm). Acto seguido se colocan los tubos en un baño de agua a 37°C. A los 2 minutos se inclinan suavemente uno de los tubos y luego a intervalos de 1 minuto hasta que la sangre haya coagulado. Se estudia el tercer tubo en la misma forma

(2, 3, 5, 20, 25, 31).

El tiempo entre la aparición de la sangre en la jeringa y el de la formación del coágulo en el tercer tubo es el tiempo de coagulación (1, 2, 5, 10, 20, 25, 31).

Otro método para la determinación del tiempo de coagulación, es el tubo capilar que consiste en realizar una punción en la piel, previa desinfección; después de secar la primera gota se llena un tubo capilar especial con la sangre, anotando el tiempo en que aparece por primera vez la sangre (2, 5, 10, 31).

Deteniendo el tubo entre los dedos pulgar e índice de ambas manos se pasa suavemente el tubo cada 30 segundos hasta que se observe un hilo de fibrina en el hueco que queda entre los extremos del tubo (2, 5, 10, 20, 25, 31).

El intervalo entre la aparición de la sangre y la del hilo de fibrina es el tiempo de coagulación (1, 2, 31).

2.10.3.- Cuenta Plaquetaria.

Para la colección de la sangre, se prefiere emplear la sangre venosa a la capilar; ésta deberá extraerse con una jeringa de plástico y colocarse en un tubo de ensayo siliconizado que contenga 2.5 a 5 mg de ácido etilén diamino tetrácético (EDTA) disódico/2ml

de sangre total para eliminar la aglutinación (31),

Precisión de la cuenta plaquetaria.

Las cuentas trombocíticas son insatisfactorias, ya sea por su tamaño tan pequeño, la distribución irregular, su rápida desintegración la facilidad para aglutinarse y para adherirse hacen difícil que las cuentas se reproduzcan con precisión (31).

El grosor del hemocitómetro no permite usar el objetivo de inmersión en aceite con el método directo, y se encuentran dificultades para distinguir los trombocitos de otras partículas como el polvo ó los desechos (2, 5, 10, 20, 25, 31).

El microscopio de fase con el equipo adecuado proporciona el mejor método, pero por lo general no se encuentra disponible (2, 5, 25, 31).

Existen dos métodos para la cuenta trombocítica: el indirecto y el directo siendo el método indirecto el más simple y práctico para la persona promedio (2, 3, 5, 10, 20, 25, 31).

Método Indirecto.

Se examina el frotis de sangre teñido y se anota el número de trombocitos en varios campos representativos y se promedia. Puede usarse cualquier tinción

para sangre de rutina, incluyendo el azul de metileno nuevo (2, 3, 5, 10, 20, 25, 31).

El hallazgo de 3 ó menos trombocitos por campo de inmersión en aceite sugiere una trombocitopenia (disminución de las plaquetas). En algunos casos de trombocitopenia es poco frecuente encontrar sólo algunos ó ningún trombocito en toda la laminilla (2, 3, 5, 10, 20, 25, 31).

El número de trombocitos puede compararse con el de leucocitos del frotis; este número relativo puede transportarse a número absoluto por medio del siguiente cálculo:

$$\frac{\text{No. de trombocitos}}{100 \text{ leucocitos}} \times \text{cuenta total de leucocitos} = \frac{\text{No. de trombocitos}}{\text{microlitro}}$$

Método Directo.

Se extrae la sangre en una pipeta para diluir eritrocitos hasta la marca 0.5 y el líquido diluyente hasta la marca 101, de manera similar a la cuenta de los eritrocitos. Entre los diluyentes que pueden usarse se encuentran los siguientes:

- a) De Rees Ecker. Este diluyente debe conservarse en un frasco bien tapado y en refrigeración (2, 3, 5, 7, 9, 10, 20, 25, 31).

Para hacer la cuenta de trombocitos con este método,

se mezcla perfectamente por 5 minutos, de preferencia en un rotor mecánico. Se expelen y desechan las primeras 4 gotas antes de llenar ambas cámaras del hemocitómetro. Para evitar la evaporación se coloca la parte superior de una caja de Petri que contenga papel filtro húmedo ó una torunda de algodón húmedo sobre el hemocitómetro (2, 3, 5, 7, 8, 9, 10, 20, 25, 31).

Se deja reposar por 15 minutos para que las células se sedimenten. Con la iluminación parcialmente reducida se cuentan los trombocitos en toda el área rayada central a cada lado del hemocitómetro (2, 3, 5, 10, 20, 25, 31).

El área rayada central es la que se usa con mayor frecuencia para los eritrocitos. Se cuentan los cuadros pequeños de 2 x 25 ó 50 grupos de 16 cuadros muy pequeños hasta llegar a un total de 2 mm cuadrados (2, 3, 5, 10, 20, 25, 31).

Se usa el ajuste pequeño para enfocar cada célula e identificar los trombocitos que se tiñen de lila de forma oval, de bastoncillo ó de coma con un tamaño considerablemente menor del de los leucocitos, que también son visibles (2, 3, 5, 10, 20, 25, 31).

Formula:

No. de trombocitos x 1000 = No. de trombocitos/microlitro

Los resultados obtenidos deberán verificarse haciendo un estudio del frotis sanguíneo para determinar si existe una buena correlación entre los dos métodos (1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 15, 17, 22, 25, 31).

D I S C U S I O N

I.- En el capítulo de MANEJO DEL PACIENTE, OBTENCION Y ENVIO DE MUESTAS, se hace una descripción del manejo del paciente como la señala Hernández, 1985, en lo particular es la que utilizo por considerar que es segura tanto para el Médico Veterinario, para sus ayudantes y para el paciente. Pero debemos señalar que no es la única forma correcta, ya que algunos médicos no acostumbran poner bozal a los animales por considerar que provocan más stress en el paciente; otros médicos prefieren que sea el dueño quien sujete al animal y no un ayudante, así pues la forma de sujeción depende de la comodidad a criterio de cada médico.

II.- La obtención de la muestra sanguínea se describió según Hernández 1985, aquí se mencionó que la muestra se obtiene de la vena cefálica, pero cabe señalar que no es la única vena accesible para este fin, ya que en cánidos podemos utilizar la vena safena y la vena yugular cuando queremos obtener volúmenes mayores de sangre.

Para la localización de la vena cefálica se dijo que ésta se hace con el dedo índice pero hay quien lo hace con el dedo pulgar.

III.- En el capítulo METODOS PARA LOS ESTUDIOS CLINICOS HEMATOLOGICOS, en la descripción de la forma de realizar el frotis sanguíneo por el método de portaobjetos se señala todo el procedimiento como lo haría una persona acostumbrada a usar su mano derecha, pero en caso de ser una persona zurda todo el

proceso es a la inversa.

IV.- En el cuadro VALORES HEMATOLOGICOS DEL PERRO que se incluyó en el apéndice del presente trabajo se recopiló toda la información de los valores sanguíneos en cánidos de diversas fuentes de información, la mayoría de ellos coinciden en los mismos valores, solo algunos autores difieren en forma poco significativa sus datos, por ejemplo, Benjamín 1985, señala que el número de eritrocitos (millones mm^3) en cánidos es de 7 mientras que en Cuadrисervicio Vepe de Purina de Marzo-Abril de 1986, señalan que hay un intervalo de 5.5 - 8.5 y un promedio de 6.8.

Dukes, H.H., Fisiología de los Animales Domésticos, en el Tomo 2, señala que las reticulocitos es de 1, mientras que en cuadrисervicio Vepe de Purina Marzo-Abril 1986, indican que hay un intervalo de 0 -1.5 y un promedio de 0.4.

Con esto se observa que hay una pequeña diferencia entre los valores dados por cada autor, pero se prefirió tomar la información de Cuadrисervicio Vepe de Purina, ya que sus estudios fueron realizados en cánidos del país mientras que las - otras informaciones son de estudios realizados en el extranjero.

A P E N D I C E

VALORES HEMATOLOGICOS DEL PERRO

<u>Serie eritrocítica</u>	<u>Intervalos</u>	<u>Promedio</u>
Eritrocitos (millones/mm ³)	5.5-8.5	6.8
Hemoglobina (g/100 ml)	12 - 18	14.9
Hematócrito	37 - 55	45.5
VGM	60 - 77	69.8
CMHG	31 - 34	33
Reticulocitos	0 -1.5	0.4
Diámetro del eritrocito (micra)	6.7-7.2	7
Eritrosedimentación	5 mm/hora	

Serie leucocítica

Leucocitos (miles/mm ³)	6 - 18	11
Neutrófilos en banda (%)	0 - 3	0.8
Neutrófilos segmentados (%)	60 - 77	70
Linfocitos (%)	12 - 30	20
Monocitos (%)	3 - 10	5.2
Eosinófilos (%)	2 - 10	4
Basófilos (%)	0	

Otros datos:

Plaquetas (miles/mm ³)	470
pH sanguíneo	7.31 - 7.42
Índice icterico	2 - 5
Volumen Sanguíneo (ml/Kg de peso)	70 - 94
Vida media del eritrocito (días)	86 -106

Tiempo de sangrado (minutos)	1 - 5
Tiempo de coagulación (minutos)	1 - 5
	(7)

Soluciones utilizadas

Rees Ecker.- Consiste en una mezcla de citrato de sodio (3.8g) formaldehído al 40% (0.2 ml), azul de cresol brillante (0.1 g) y agua destilada (100 ml).

Tinciones utilizadas

Wright.- La tinción de Wright puede comprarse en forma líquida y se usa con tampón de fosfato. El portaobjetos se coloca sobre una gradilla de tinción y se añade suficiente tinción de Wright para que cubra el portaobjetos. Al cabo de 1 minuto se añade una cantidad igual del tampón de fosfato y se mezcla soplando sobre el portaobjetos hasta que aparezca un brillo metálico. El tiempo para que reaccione la tinción tiene que determinarse para cada tinte nuevo; se sugiere 3 minutos como período de ensayo. La espuma y el tinte se lavan rápidamente con agua destilada natural (2, 13).

Giemsa.- Debe comprarse en forma líquida. La película se fija en metanol absoluto durante 3 a 5 minutos y se seca. Un frasco de Coplin se llena de solución de tinción preparada añadiendo 1 gota de la tinción de Giemsa por cada ml de agua destilada neutra. El portaobjetos previamente secado al aire se deja en el frasco durante 30 minu-

tos, se lava con agua destilada neutra y se vuelve a secar al
aire (2, 4, 13).

B I B L I O G R A F I A

- 1) Balcells, A; La Clínica y el Laboratorio, México, Ed. Marín, primera edición, 1985.
- 2) Benjamín, M.: Manual de Patología Clínica Veterinaria. México. Ed. LIMUSA, primera edición. 1984.
- 3) Buntington, James: El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. Ed. La Prensa Médica, primera edición. 1980.
- 4) Berkow, Robert: El Manual Merck de Diagnóstico y Terapéutica. E.U.A. Ed. Merck Sharp and Dohme Research Laboratories. Sexta edición. 1982.
- 5) Conn, E.E. y Stempf, P.K.: Bioquímica Fundamental. México Ed. LIMUSA. segunda edición. 1982.
- 6) Cuadriseservicio Vepe de Purina. Marzo-Abril 1985, año séptimo. No. 2. 1985 Baggs, R.B.: Anemias Nutricionales. Universidad de Rochester, New York. p.3-5
- 7) Cuadriseservicio Vepe de Purina, Valores normales sanguíneos del perro. Marzo-Abril, 1986, Año octavo. No. 2 1986. Edición bimestral. p. 4-6.
- 8) Charles, N.M.L.: Obtención y Manejo de las Muestras de Sangre para hemograma. Curso de actualización en hematología clínica en pequeñas especies/Memorias. México. 1986.
- 9) Davidsonhn, Israel Bernard; Diagnóstico Clínico por el Laboratorio. España. Ed. Salvat Editores, sexta edición. 1979.

- 10) Diagnóstica Marek: Diagnóstico de Laboratorio en Medicina Veterinaria; Análisis de sangre, suero, plasma, orina, leche y jugo gástrico de panza. Sin pie de imprenta.
- 11) Dukas, H.H. y Swenson, M.J.: Fisiología de los Animales Domésticos. Tomo 2. España. Ed. Aguilar, 1980.
- 12) Fairbank F. Virgil and Klee G.,: Biochemical aspects of Hematology. in Textbook of Clinical Chemistry, Norbert W Tietz (ed) W.B. Saunders Company Philadelphia, 1986. p. 1495-1587
- 13) Fernández Mejía, Jorge Carlos: Biometría Parasítica. Temas Selectos de Laboratorio Clínico. Memorias. México. 1986.
- 14) Frandson, R.D.: Anatomía y Fisiología de los Animales Domésticos. México. Ed. Interamericana S.A. de C.V. primera edición. 1983.
- 15) Ganong William: Manual de Fisiología Médica. México. Ed. El Manual Moderno. décima edición. 1986.
- 16) García E., Rosa María. Eritropoyesis. México. Temas Selectos de Laboratorio Clínico. Memorias. 1986.
- 17) García F., M.: Biometría Hemática Reportes de Clínica y Zootecnia. Vol. I. No. 1, 8-10. 1985.
- 18) Guyton, A.C.: Tratado de Fisiología Médica. México, séptima edición. Ed. Interamericana. 1984.
- 19) Hernández Pérez Alberto. Toma y Envío de Muestras al La-

- boratorio Clínico. Ciclo de conferencias de Actualización en producción animal. F.E.S. Cuautitlán, UNAM. Agosto. 1985.
- 20) Hernández Pérez Alberto. El Uso de Sistemas Automatizados en el Laboratorio Clínico. Memorias XVII, Reunión AMMVEPE, Guadalajara, Jalisco. 1985.
- 21) Hernández Pérez Alberto. Consideraciones Generales para la toma y Envío de Muestras al Laboratorio Médico. Material Impreso Laboratorio Médico del Chopo. 1985.
- 22) Hillaman, R.C.: El Eritrocito. México. Ed. El Manual Moderno. primera edición. 1986.
- 23) Howard, E. Band Matsumoto. Laboratory Procedures, in Animal Healt Tecnology: a text for Veterinary Aides, E.J. Catcott ed. U.S.A. segunda edición. American Veterinary Publications. Inc. 1982.
- 24) Kirk, R.W. Urgencias en Veterinaria. España. segunda edición. Ed. Salvat. 1982.
- 25) Lynch, M.J. et. al. Métodos de Laboratorio. México. segunda edición. Ed. Interamericana. 1982.
- 26) Parkins, R.A. y Pegrum, G.D. Las Bases del Diagnóstico Clínico. México. sin edición. Ed. C.E.C.S.A. 1980.
- 27) Sandikoff, C.: Laboratory Profiles of small animal disease a guide to laboratory diagnosis. American Veterinary Publications, INC. Illinois, U.S.A. s/a 1973.

- 28) Schalm, O.W., Jain, N.C. y Carrol, E.J. Veterinary Hematology, Philadelphia. tercera edición. Lea and Febiger. 1975.
- 29) Sellingson, David., CRC Handbook, Series in Clinical Laboratory Science. Section I. Hematology I. Ed. CRC Press, Inc. 1979. U.S.A.
- 30) Temas Selectos de Laboratorio Clínico. Memorias, Curso de Actualización UNAM, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. División de Estudios de Posgrado, Coordinación de Cursos. México, 1986.
- 31) Woodliff. H.J. y Herman R.P. Hematología Clínica. México. primera edición. Ed. El Manual Moderno. 1981.