

38
2 of



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores
"CUAUTITLAN"



Montaje de la Técnica de microhematócrito y de velocidad de sedimentación en caninos (Canis familiaris) en el servicio de cirugía experimental (Bioterio), del C. H. "20 de Noviembre" I.S.S.S.T.E.

T E S I S
Que para obtener el Título de:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P r e s e n t a
JUAN JAIME JARAMILLO RAMIREZ

Director: M.V.Z. Fernando Viniegra Rodríguez



Cuautitlán Izcalli, Edo. de México

1989

FALLA DE ORIGEN



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.

INDICE

II) INTRODUCCION	
I.1 Antecedentes científicos.....	1
I.2 Planteamiento del problema.....	5
I.3 Justificación y finalidad.....	6
I.4 Hipótesis.....	7
I.5 Objetivo.....	8
III) MATERIAL Y METODOS.....	9
IV) RESULTADOS.....	13
V) DISCUSION.....	25
VI) CONCLUSIONES.....	27
VII) BIBLIOGRAFIA.....	30

56

I.1 Antecedentes científicos

La prueba de velocidad de sedimentación en el perro (*Canis familiaris*) es especialmente apta para esta especie (1,10), la década de los cincuentas fue especialmente pro - picia y abundante en trabajos originales sobre este tema.

Se estudió la relación entre la velocidad de sedimentación y proteínas plasmáticas totales para establecer criterios de efectos terapéuticos (13). Numerosas determinaciones de la velocidad de sedimentación fueron hechas tanto en perros normales (11) como en perros enfermos, por ejemplo perras con afecciones hiperplásicas en glándula mamaria que mostraban incrementos en el rango de velocidad de sedimentación (1,2) perros con lesiones de la piel, de tipo inflamatorio o por desórdenes hormonales como hipotiroidismo o hiperadrenocorticismismo mostraban incrementos en el rango de velocidad de sedimentación (1). Como condiciones generales que alteran la velocidad de sedimentación aumentando su rango se mencionan infecciones de todo tipo, agresión y destrucción de tejidos incluyendo cirugía(1). Abundante información sobre la realización, aplicación e interpretación de resultados existe actualmente (1,10,13). Son varios los métodos para efectuar esta prueba; Wintrobe, Westergreen, Guttler y por tubos capilares. El mas usual es Wintrobe. A pesar de que el uso del rango de velocidad de sedimentación no es tan extenso en medicina veterinaria como lo es en medicina humana sus parámetros estan bien establecidos y sus aplicaciones clinicas son aceptadas(1).

Schalm señala que la detección de reticulocitosis por la prueba de velocidad de sedimentación, se observa como un fe-

-nómeno llamado por el reacción difásica de sedimentación y consiste en la obtención de un plasma rojizo sin una línea nítida de separación entre la masa celular sedimentada y el plasma (1,10).

Una variante en la ejecución de esta prueba es mencionada y consiste en añadir inclinación al tubo, esta inclinación puede ser a 45° y a 60° , se reportan como ventajas, ahorro de tiempo, valores aceptables para la clínica de rutina, la evaluación de las características del plasma no sufre variaciones. A mayor inclinación mayor rapidez, la lectura en el caso de la inclinación a 60° se hace a intervalos de 7, 10 y 20 minutos que corresponden a las lecturas de 1, 2 y 24 horas en el tubo vertical (7,14).

La determinación del volumen del paquete celular (PCV por sus siglas en inglés) o valor hematócrito es otra de las pruebas comprendidas dentro de la biometría hemática, y las investigaciones originales fueron realizadas en la década de los cincuentas. Uno de los métodos para obtener el valor del hematócrito es el microhematócrito, Strumia en 1959 (10, 12) diseñó el método mejorado de microhematócrito, con las ventajas de ahorro de tiempo, mayor exactitud, reproducibilidad y mínima cantidad de sangre requerida.

Otros estudios para determinar la correlación con el número de eritrocitos y PCV fueron realizados (10,11). Las aplicaciones que actualmente se le dan son múltiples, debido a su buena sensibilidad y reproducibilidad, se pueden obtener aproximaciones del conteo de células rojas totales así como de la estimación de la hemoglobina.

El uso de microhematócrito como una de las pruebas en la observación de pacientes en estado crítico esta documentado. El microhematócrito añadido a la exploración física y la anamnesis permite establecer criterios adecuados en la aplicación de terapia de fluidos, así como en pronóstico y diagnóstico adecuados de los pacientes en estado crítico. Por la complejidad de la homeostasis corporal de líquidos, electrolitos y dinámica vascular, una sola prueba puede no ser representativa del estado general y evolución del paciente, recomendándose pruebas seriadas a intervalos de 30-60 minutos por varias horas. (9)

Las variaciones en el método de microhematócrito se presentan, es posible el uso de tubos capilares heparinizados o no, precalibrados o no, para estos últimos es necesario el uso de lectores especiales de microhematócrito(5), estos lectores no son indispensables, la lectura puede hacerse con una simple regla centimétrica y regla de tres.

Errores en el resultado de microhematócrito se presentan por fallas técnicas, por ejemplo; oclusión venosa prolongada causando estasis venosa y hemocentración que pueden incrementar el microhematócrito hasta en 5%, los animales hiperexcitados liberan epinefrina con la consecuente contracción esplénica que puede incrementar el hematócrito hasta en 10-15% pues el hematócrito de sangre esplénica es de 80% (5,9). Hinton y Jones demostraron que el retraso en el examen de las muestras puede ocasionar cambios en los datos obtenidos del hematócrito, obteniendo valores más altos que en muestras recién tomadas, especialmente si los valores de hemoglobina están en rangos de 9-19 g/dl (6).

Wintrobe y Landsberg desarrollaron una gráfica de corrección de rango de velocidad de sedimentación basado en el hematócrito, el fundamento es que la cantidad de eritrocitos puede influir en la estabilidad de la suspensión sanguínea y por tanto en su velocidad de sedimentación, esta gráfica fue modificada por Schalm con rangos de velocidad de sedimentación esperados para cada valor de hematócrito (Tabla 1) (1,4,10).

I.2 Planteamiento del problema

El bioterio del Servicio de Cirugía Experimental provee el material biológico (perros) necesario para el curso de Educación quirúrgica que ahí se imparte. Se realizan cuatro intervenciones quirúrgicas diarias, lo que se traduce en veinticuatro pacientes por semana como promedio, además de las intervenciones en programas de investigación.

Dentro de la rutina llevada a cabo en el bioterio se presenta una realidad compleja y no abordada clínicamente hasta ahora, esta es la evaluación en el post-quirúrgico inmediato del estado de choque por hemorragia, sepsis o traumatismo durante la cirugía, a doce años de fundado el servicio no se cuenta con el laboratorio que nos permita esta evaluación.

I.3 Justificación y finalidad.

Hasta ahora no se realizan pruebas de laboratorio en el bioterio que nos permitan llevar a cabo medidas terapéuticas racionales en los pacientes que han sufrido cirugía. Las pruebas de laboratorio que se proponen tienen las ventajas de complementar en alguna medida la exploración física de los pacientes, nos permiten una evaluación temprana del estado general del paciente - después de cirugía, se pueden llevar a cabo paralelamente, solo se necesitan 5 ml. de sangre para ambos estudios y se corren en un tiempo corto que no excede de dos horas. Aparte el costo inicial de aparatos el costo por cada prueba es mínimo.

I.4 Hipótesis

Se establece como premisa que el conocimiento del hematócrito del animal así como el de su velocidad de sedimentación tienen valor para complementar la exploración física del paciente.

Esperamos encontrar las pruebas de hematócrito y de velocidad de sedimentación que puedan realizarse rutinariamente en el bioterio.

I.5 Objetivo

Se pretende el montaje de técnicas viables de microhematócrito y de velocidad de sedimentación globular como un medio que permita evaluar complementaria ente el estado general de pacientes caninos en el pre y post-quirúrgico, mediante la toma y análisis de muestras sanguíneas.

II Material y Metodos.

I Localización:

Los estudios fueron realizados en el Laboratorio del Hospital, la eritrosedimentación en la sección de Hematología y el microhematócrito en el Laboratorio de Urgencias. La toma de muestras se realizó en la sección Bioterio del Servicio de Cirugía Experimental.

II Animales:

Los perros usados en el estudio son parte del material biológico con que cuenta el H.A. 20 de Noviembre y proceden de donaciones hechas por los antirrábicos de San Juan de Aragón y Culhuacán, otros son animales nacidos en el bioterio y criados hasta su edad adulta (12-18 meses). Los animales no recibieron preparación adicional a las prácticas profilácticas de rutina que incluyen desparasitación interna y externa y vacunación con virus rábico.

III Criterio de clasificación .

La investigación realizada fue del tipo observacional, descriptiva, prospectiva y transversal.

IV Procedimientos.

Del total de la población canina del bioterio se eligieron tres sectores con el fin de obtener una muestra representativa.

Sector I: Son animales destinados a la enseñanza quirúrgica, son animales adultos machos y hembras.

Sector II: Son animales destinados a la investigación, son animales adultos machos y hembras, son escogidos por su buena disposición temperamental y condición física superior.

Sector III: Comprende animales nacidos en el bioterio, machos y hembras, cachorros y adultos, hembras gestantes y donadores de sangre, internamente se les designa de "material biológico".

El montaje de las técnicas de velocidad de sedimentación globular y microhematócrito se llevó a cabo mediante el examen de 196 muestras de sangre, la sangre se obtuvo por punción de las venas cefálica, safena y yugular con tubos vacutainer con EDTA al 10% y jeringas con heparina a la dosis de 500 Unidades por 5 ml.

La eritrosedimentación se realizó por la técnica de Wintrobe convencional a una hora, se toma un centímetro de sangre de la muestra con una jeringa y cánula metálica especial para eritrosedimentación, llenándose el tubo de Wintrobe desde el fondo ascendiendo hasta llegar a la marca "0" de la escala, cuidando que no se formen burbujas de aire, el tubo se coloca en posición vertical en la gradilla de sedimentación, al cabo de una hora se registra el número de milímetros que han descendido los corpúsculos.

Precauciones y causas de error.

- 1.- Debe homogenizarse la muestra antes de usarse
- 2.- El tubo de Wintrobe debe estar limpio y seco, exento de alcohol o éter.
- 3.- La posición del tubo debe ser exacta a noventa grados, pues si el instrumento forma un ángulo solo de tres grados con la vertical puede tener una aceleración significativa hasta del 30%.

Los resultados de eritrosedimentación se corrigieron de acuerdo al valor hematócrito mediante una tabla de rangos relativos.

-vos tomada de Schalm (tabla 1).

Microhematócrito.- Esta prueba se realizó con tubos capilares no heparinizados, no precalibrados. Los tubitos se llenan por el extremo opuesto a la franja de color, introduciendolos al tubo que contiene la muestra, llenandose por capilaridad hasta $2/3$ de su longitud aproximadamente, el extremo libre donde se encuentra la banda de color se oblitera por fuego. Los aparatos para centrifugar varían entre 10 y 12,000 revoluciones por minuto y una Fuerza Centrifuga Relativa (FCR) entre 13.310 x gravedad y 14.499 x gravedad.

El aparato utilizado es una centrifuga "Adams Autocript" de 8 plazas con un radio de 9 cm., 12.000 rpm., y FCR de 14.999 x Gravedad. El máximo de concentración de los corpusculos se obtiene en 3 a 5 minutos. Un tiempo mayor de centrifugación puede ocasionar lisis de los hematíes debido a calentamiento. La lectura se hace en porcentaje en un lector gráfico ad-hoc para microhematócrito o utilizando una regla centimétrica.

Precauciones.

- 1.- Homogenizar la muestra antes de usarse
- 2.- No centrifugar menos de 4 minutos ni mas de 5.
- 3.- El tubo debe llenarse por lo menos hasta la mitad y no pasar de los $3/4$ de su longitud
- 4.- No olvidar obliterar el extremo del tubo .

El rango de eritrosedimentación considerado normal es de 0-2 mm/hora. El rango normal de hematócrito es de 37-55%.

TABLA 1

Debido a que la cantidad de eritrocitos puede influir en la estabilidad de la suspensión sanguínea y por tanto en su velocidad de sedimentación, se uso esta gráfica de corrección con rangos de velocidad de sedimentación esperada para cada valor hematocrito(PCV).

Rango relativo para sedimentación eritrocítica anticipada de sangre canina en milímetros a una hora para valores de PCV (hematocrito) de 9 a 50 .

PCV	VSG	PCV	VSG	PCV	VSG
9	82	23	40	37	13
10	79	24	38	38	12
11	76	25	36	39	11
12	73	26	34	40	10
13	70	27	32	41	9
14	67	28	30	42	8
15	64	29	28	43	7
16	61	30	26	44	6
17	58	31	24	45	5
18	55	32	22	46	4
19	52	33	20	47	3
20	49	34	18	48	2
21	46	35	16	49	1
22	43	36	14	50	0

La lectura de resultados se explica a continuación;
 VSGo observada - VSGa anticipada = VSGc corregida
 positiva o negativa.
 Ejemplo; si se hace una lectura de 10 mm y su hematocrito es de 31% entonces;
 VSGo 10 - VSGa 24 = VSGc -14 . (Schalm,10)

III RESULTADOS

1.- Distribución de resultados de microhematócrito
Sector I pre peritorio.

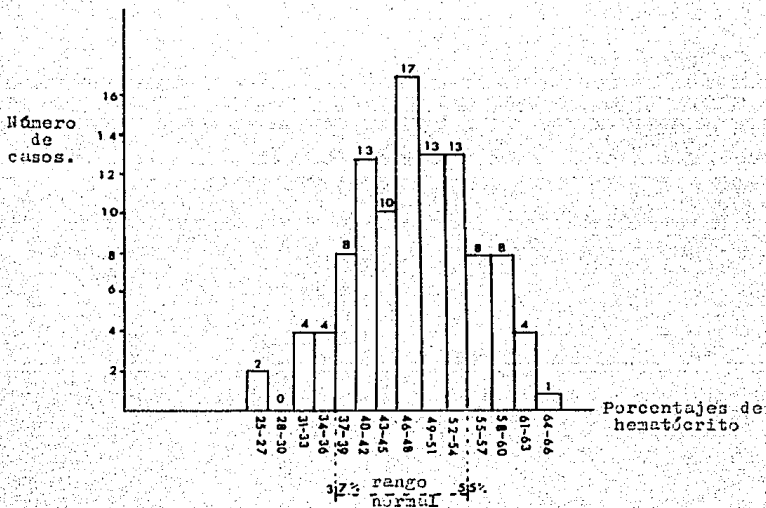
Tendencia central

X: 47.52 %

Mo: 47 %

Me: 47.4 %

Número total de
casos 104



Excepto por la caída en la segunda columna la distribución tiende a ser normal.

Las medidas de tendencia central se encuentran sobre 45 % considerado valor promedio normal.

El mayor porcentaje de casos se encuentra entre los rangos normales de 37 a 55 % .

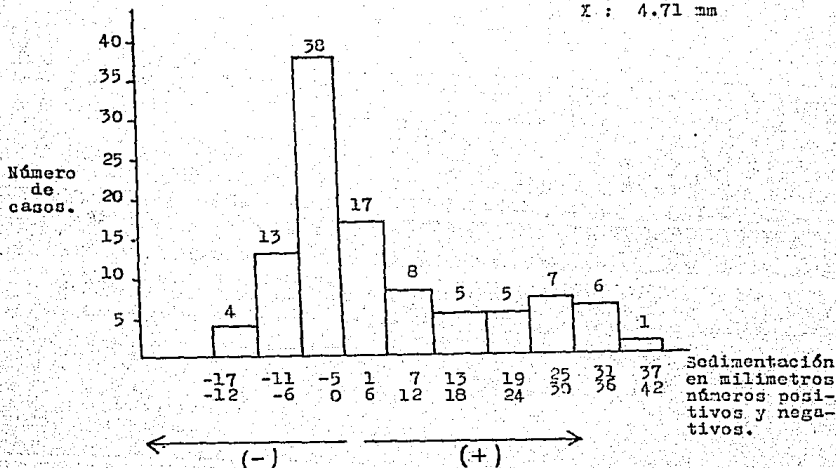
2.- Distribución de resultados de Velocidad de Sedimentación Globular.

Sector I preoperatorio

Número total
de casos: 194.

Tendencia central

Mo : -2.5mm
Me : -1.4 mm
 \bar{X} : 4.71 mm

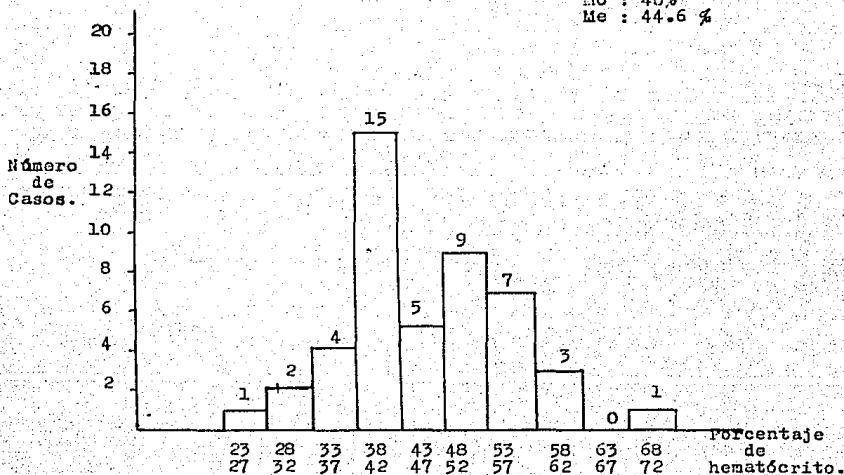


La tercera y cuarta columna que agrupan el mayor porcentaje de casos, tienden a agruparse alrededor de \bar{Q} de sedimentación.

3.- Distribución de resultados de microhematócrito Sector I post-quirúrgico.

Número total
de casos: 47.

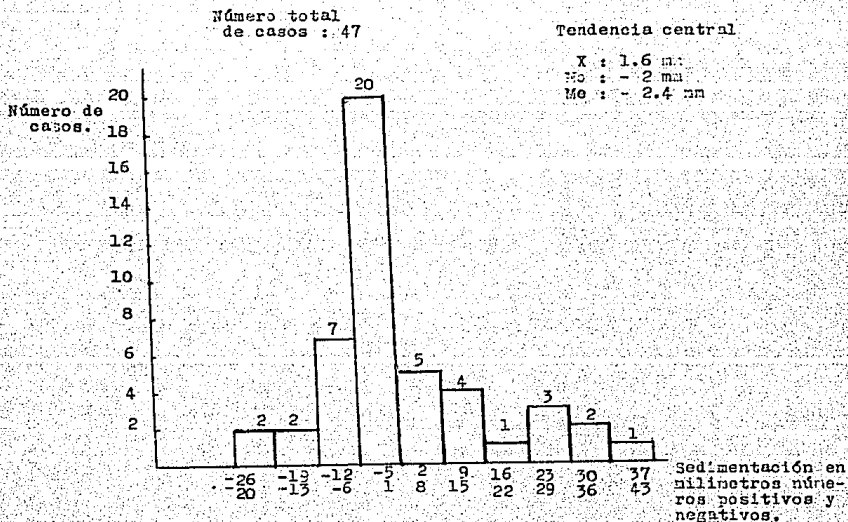
Tendencia central
X : 45.42 %
Mo : 40%
Me : 44.6 %



El caso de la última columna es excepcional, ya mostraba signos de deshidratación y hemoconcentración antes de cirugía.

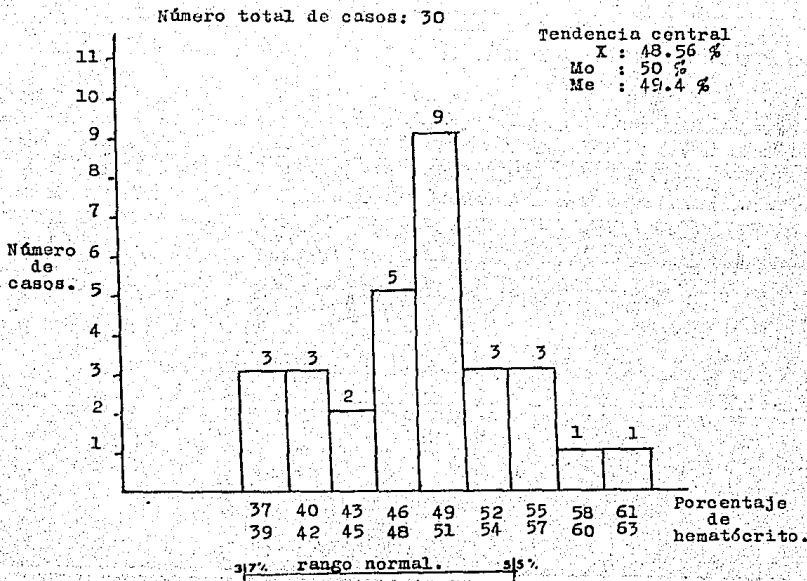
Aunque la media aritmética muestran valores próximos al promedio normal de 45 %, la moda y la gráfica muestran una mayor frecuencia de casos entre 38 y 42 %.

4.- Distribución de resultados de Velocidad de Sedimentación Globular. Sector I.- post-quirúrgico.



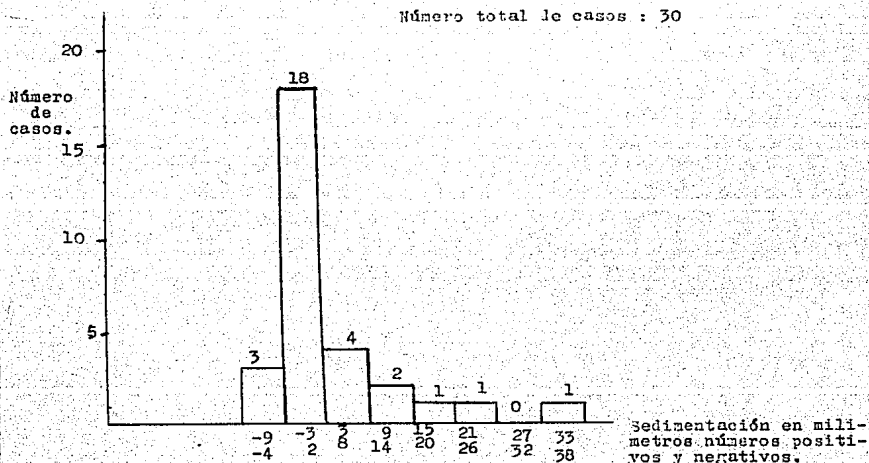
La cuarta columna contiene el mayor porcentaje de datos acumulándose alrededor de cero.

5.- Distribución de resultados de microhematócrito
Sector III Material Biológico.



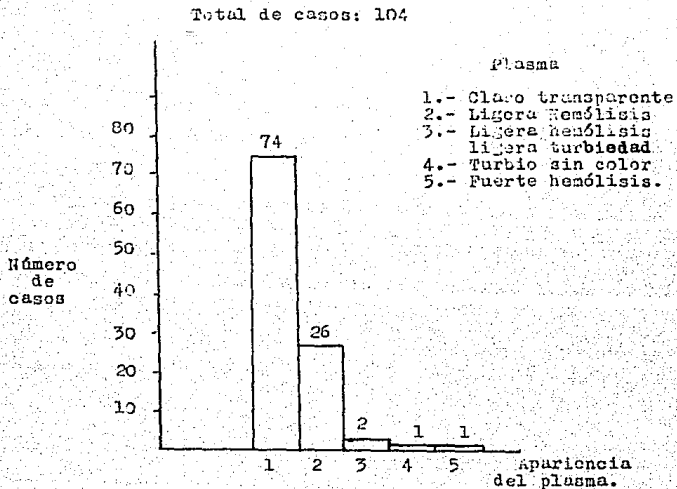
No obstante el reducido número de casos, los valores de tendencia central coinciden como en distribuciones normales y están por encima del promedio normal y por encima de los otros grupos muestreados en este estudio. No hubo valores inferiores a 37 % límite inferior del rango normal.

6.- Distribución de resultados de Velocidad de Sedimentación Globular. Sector Material Biológico.



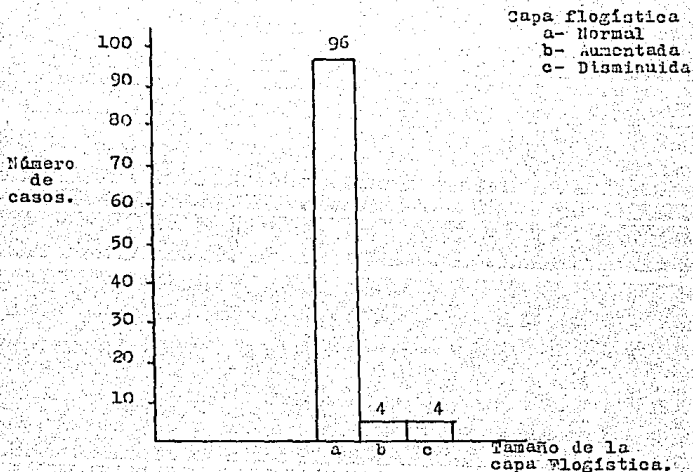
Más del 50% de los datos se agrupan alrededor de cero.
Solo 3 muestran valores negativos de significancia y solo 5 valores positivos de significancia.

7.- Calificación de plasma y capa flogística observados
en el tubo microhematócrito.
Sector I preoperatorio



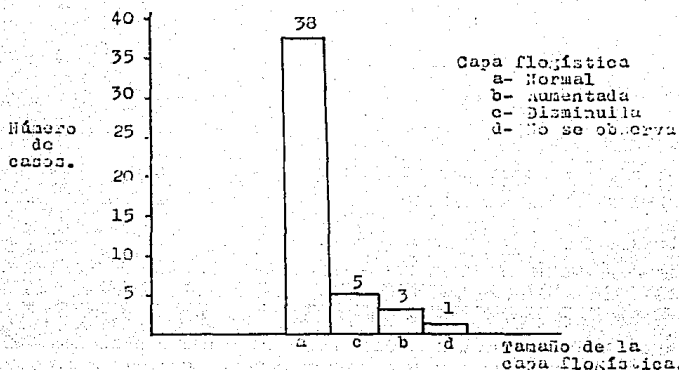
La turbiedad podría indicar reciente consumo de alimentos, normalmente el plasma carece de color y es transparente.

7a.- Calificación de capa flogística observada
en el tubo microhematócrito.
Sector I Preoperatorio.

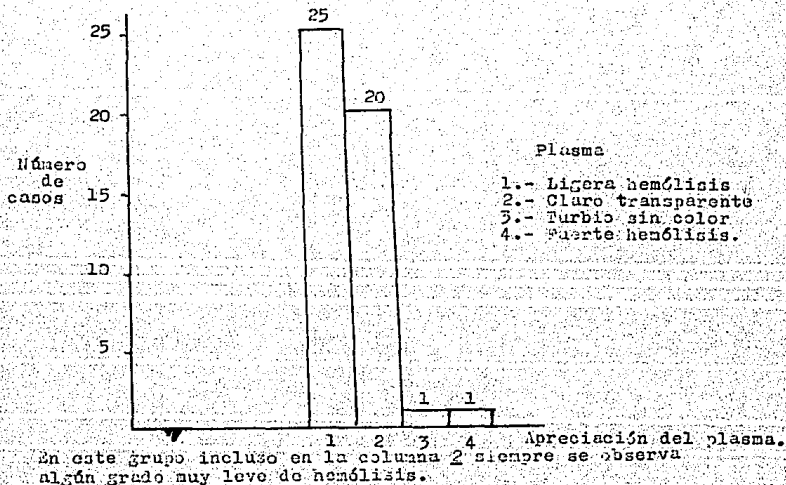


La composición de la capa flogística esta dada básicamente por leucocitos, los aumentos coincidían con animales que mostraron leve signología respiratoria o lesiones abrasivas cutáneas.

3.- Calificación de plasma y capa flogística observados en el tubo microhematócrito. Sector I post-quirúrgico.

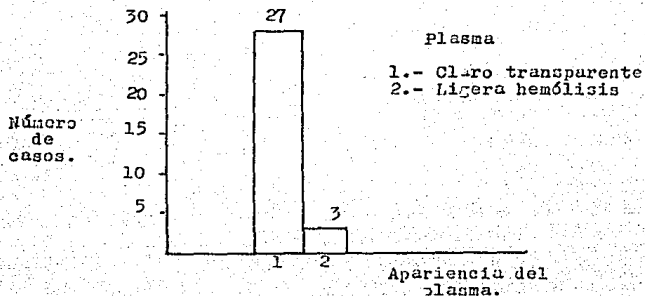


El caso de la columna d no se observa por la fuerte hemólisis presentada. En este grupo las líneas de separación plasma-capla flogística-columna de rojos, no era nítida.

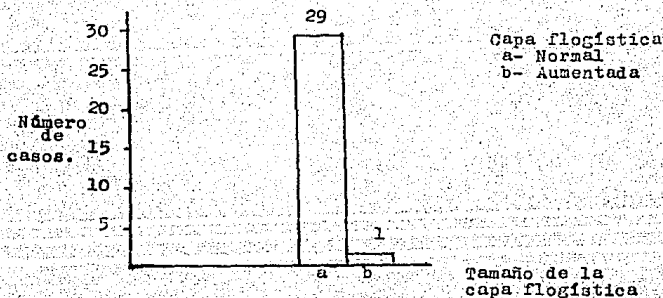


9.- Calificación de plasma y capa flogística observados en el tubo microhematócrito.

Sector III Material Biológico.



Las muestras afectadas representan el 10 % del total del sector, el grado de hemólisis fue apenas perceptible.



Los animales de este sector son los que presentan mejores condiciones de salud.

10.- Cuadro de resultados del Sector III Investigación

Microhematócrito

No. Expediente	%	Plasma	Capa flogística
8341 *	27	1	a
8164	45	1	a
8164	50	1	a
8398	56	2	c
8487	49	1	o
8345	49	1	c
8654	51	2	a
8655	61	2	a
8654	55	2	a
8655	44	2	a
8398	49	1	a
8674	60	2	a
8674	46	4	d
8658	54	1	a
8570	48	2	a

Plasma

- 1.- Claro transparente
- 2.- Ligera hemólisis
- 4.- Fuerte hemólisis

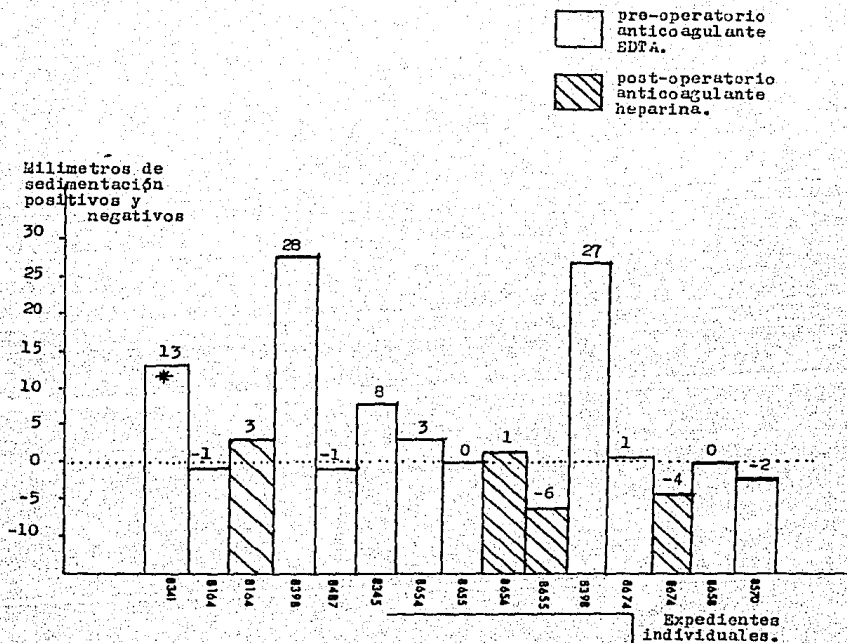
Capa flogística

- a) Normal
- b) Disminuida
- d) No se observa

*Sedimentó en forma difásica.

Tenemos un sector dentro de rangos normales excepto dos hemoconcentraciones y un caso de anemia. No se observaron aumentos en la capa flogística ni coloraciones ictéricas o turbiedad del plasma.

11.- Resultados de Velocidad de Sedimentación Globular.
Sector II.



* Único del sector que presentó sedimentación difásica, la lectura directa en el tubo antes de corregirla fué 45 mm. y el hematócrito 27 %.

-La sedimentación ideal normal sería "0".

-Fuertes sedimentaciones son indicadoras de infecciones severas, procesos inflamatorios o anemias.

IV DISCUSSION

La mínima variación en los resultados del microhematócrito entre los animales antes y después de ser operados, hace evidente que su medición inmediatamente después de la cirugía tiene aplicaciones muy limitadas. No puede tomarse el valor hematócrito como una guía única para decidir sobre medidas terapéuticas de urgencia como ser sustitución de líquidos o transfusiones de sangre, arbitrariamente por ejemplo, sólo con un valor hematócrito de 15% o menos se indicaría la transfusión y esos valores no se observaron en los animales muestreados. En la población muestreada se observaron valores inferiores al rango mínimo normal de 37%, groseramente esto nos indica la presencia de anemia en esos animales sin aclarar otras consideraciones como etiología o morfología de la anemia.

La apariencia del plasma canino normal debe ser sin color y transparente, el tubo microhematócrito presentó la gran desventaja de que por su pequeño tamaño no son fácilmente observadas ni determinadas estas características

La bibliografía no señala para el tubo microhematócrito un grosor dado de la capa flogística, en base a los primeros resultados obtenidos y considerando que la población era clínicamente sana, tomamos arbitrariamente el grosor de 1 mm., como parámetro de normalidad.

En muchas infecciones agudas la velocidad de sedimentación es normal, en las infecciones crónicas se acelera, sin embargo una velocidad de sedimentación acelerada puede estar asociada con tantos y diferentes procesos que producen lesión celular o alteraciones en las proteínas sanguíneas, que difícilmente es útil en el diagnóstico específico de infección.

Podría ser útil en la valoración de la respuesta terapéutica. En alguna medida, los valores negativos tomados como indicadores de desnutrición tendrían una aplicación más práctica.

V CONCLUSIONES

En relación al montaje de las técnicas mencionadas, realizado en muestras de 196 perros del bioterio del H.R. "20 de Noviembre", se concluyó así:

Microhematócrito:

-Sector Enseñanza Quirúrgica pre-operatorio.

El apoyo clínico que brinda microhematócrito es discreto, solamente valores por abajo o por arriba del rango normal pueden ser tomados como indicativos de alteración. Estos casos representan un porcentaje muy reducido de la muestra en este sector. La tendencia a la normalidad del grupo reflejaría el estado general de salud como bueno.

-Sector E.Q. post-operatorio.

En este grupo los valores más frecuentes se encuentran en 38-42%. En general las medidas de tendencia central como toda la gráfica se deslizó hacia valores más bajos que la precedente. La toma de muestras a este grupo se hizo en el periodo inmediato a cirugía, tal vez un exceso en la terapia de líquidos que reciben estos animales sea la causa de esta aparente hemodilución.

-Sector Material Biológico.

En este grupo quedaron incluidos cinco donadores de sangre con una donación mensual en promedio, no obstante no hubo en este sector valores por debajo de 37% indicadores de anemias, las medidas de tendencia central fueron las más altas hasta aquí. Los animales de este sector son los mejor adaptados y los que tienen mejores condiciones físicas.

-Sector Investigación.

En este sector se detectó un caso de anemia con 27% de

hematócrito, no hubo hemoconcentraciones de mas de 70%.

La media aritmética fue de 49.6%. Lo que reflejaría el estado general como bueno.

Velocidad de Sedimentación Globular:

-Sector E.Q. preoperatorio.

Las alternativas de interpretación son mas concretas con valores negativos, por ejemplo, afección hepática, pero sobre todo desnutrición, los valores positivos no son concluyentes, los animales muestreados eran aparentemente sanos.

-Sector E.Q. post-operatorio.

Su utilidad en animales recién operados es limitada, pues la observación en este grupo de un porcentaje mayor de valores negativos y de valores en cero, indican poca sensibilidad a detectar agresiones mas o menos severas de los tejidos en ese periodo de tiempo.

-Sector Material Biológico.

Aquí el porcentaje de animales con valores negativos fue menor. Son animales mejor nutridos que los anteriores, los valores positivos fueron de hembras gestantes y otros animales con afecciones inflamatorias de piel, la detección de gestaciones por este medio es una posibilidad interesante.

-Sector Investigación.

Excepto por tres casos de sedimentación pronunciada todos los demas no permiten otras inferencias.

Calificación de Plasma y Capa Flogística observados
al tubo Microhematócrito.

-Sector E.Q. preoperatorio.

La calificación del plasma fué muy subjetiva, la diferencia de apariencia no es clara, la diferencia entre plasma claro-transparente y ligeramente hemolítico es mínima, en este grupo la prueba no manifestó aplicaciones clínicas.

La apreciación de capas flogísticas aumentadas fué más evidente que la de capas disminuidas. En una población considerada sana globalmente los aumentos correspondieron a animales con leve signología respiratoria. Los valores disminuidos no permitieron otras conclusiones.

-Sector E.Q. post-operatorio.

En este grupo la diferencia de coloración de plasma entre claro-transparente y ligeramente hemolítico fue mínima, clínicamente no tuvo mayor significación, no se observaron otras tonalidades diferentes a las del sector anterior.

La capa flogística no varió significativamente con respecto al periodo pre-quirúrgico.

-Sector Material biológico.

La población se mostró normal en ambos parámetros.

-Sector Investigación.

En este sector no se observó ni un aumento de la capa flogística a pesar de encontrarse individuos con algunos días de convalecencia quirúrgica. Un caso de fuerte hemólisis es probablemente debido a un error en la toma de la muestra.

V BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Benjamin, Maxine M.: Outline of Veterinary Clinical Pathology; 3rd ed. The Iowa State University Press. Ames, Iowa USA 1978.
- 2.- Christoph, H.J.: The blood sedimentation reaction in glandular hyperplasia in bitches. *Mh Veterinary Med.*-9 156-157. 1954.
- 3.- Duncan, J.R.; Prasse, K.W.: Veterinary Laboratory Medicine Clinical Pathology; 1st ed., The Iowa State University Press. Ames, Iowa USA 1977.
- 4.- Goldston, R.T. et al: The Basic Clinical Pathology Laboratory-4; Evaluation of the erythrocytes (total erythrocyte count, erythrocyte indices and sedimentation rate.) *Vet. Med. and Small Animal Clinician* 75 (4) 586,588,590; 1980.
- 5.- Goldston, R.T. et al: The Basic Clinical Pathology Laboratory-3; Evaluation of the erythrocytes (hematocrit and hemoglobin determinations). *Vet. Med. and Small Animal Clinician* 75 (3) 407,409,410; 1980.
- 6.- Hinton, M.; Jones, D.R.E.; The hematological examination of canine samples received by post; the influence of delay in examination on red cell parameters. *Journal Small Animal Pract.* 18, 95-99, 1978.
- 7.- Niemand, H.G.: Prácticas de Clínica Canina, 2da reimpression en español 1983 de la 3ra edición en alemán 1974, Ed CECSA México 1983.
- 8.- Penny, R.H.C. et al; Some observations on the effect of concentration of EDTA on the packed cell volume of domesticated animal. *Br. Vet. J.* 126, 1970.
- 9.- Sattler, F.P. et al: Veterinary Critical Care, 1st ed. Lea and Febiger, Philadelphia, Pa, 1975.
- 10.- Schalm, O.W. et al: Veterinary Hematology, 3rd ed. Lea and Febiger, Philadelphia, Pa, 1975.
- 11.- Schlenker, F.S. et al: On the determination of packed cell volume. *Journal Laboratory Cli. Med.* 39, 582-590 1952.
- 12.- Strumia, H.M.; Sample, A.B.: An improved microhematocrit method. *J. Clin. Pathology*, 24, 1016-1024, 1954.
- 13.- Westergreen, A. et al: The sedimentation reaction in relation to the plasma protein as a criterion of therapeutic effect. *Acta Med. Scand.* 139-214, 1951.
- 14.- Washburn, A.H. et al: The sedimentation of erythrocytes at an angle of 45 degrees. *J. Lab. Clin. Med.* 49, 318-319, 1957.