UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
FACULTAD DE CIENCIA ANIMAL
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

"Por un Desarrollo Agrario Integral y Sostenible"

TRABAJO DE GRADUACIÓN

MANUAL DE DIAGNOSTICO CON ÉNFASIS EN LABORATORIO CLÍNICO VETERINARIO

Autor:
Cesar A. Gallo Lamping

Tutor:
Dr. Mauricio Silva Torres MSc.

Asesor:
Dra. Mireya Lamping Larios MSc.

Managua, Nicaragua. Julio, 2014.

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
FACULTAD DE CIENCIA ANIMAL
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

TRABAJO DE GRADUACIÓN

MANUAL DE DIAGNOSTICO CON ÉNFASIS EN LABORATORIO CLÍNICO VETERINARIO

Autor:
Cesar A. Gallo Lamping

Tutor:
Dr. Mauricio Silva Torres MSc.

Asesor:
Dra. Mireya Lamping Larios MSc.

Managua, Nicaragua. Julio, 2014.

Título de la Obra:
Manual de Diagnostico con Énfasis en Laboratorio Clínico Veterinario

Autor:
Cesar A. Gallo Lamping

Tutor:
Dr. Mauricio D. Silva Torres MSc.
Responsable del Área Clínica
Facultad de Ciencia Animal
Universidad Nacional Agraria

Asesor:
Dra. Mireya S. Lamping Larios MSc.
Responsable del Área de Ciencias Morfológicas
Jefe del Departamento de Medicina Veterinaria
Facultad de Ciencia Animal
Universidad Nacional Agraria

Revisores:
Dra. Marlen Lacayo de Mora MSc.
Directora del Laboratorio Clínico
Centro de Diagnóstico Veterinario "Las Colinas Sur"

Dr. José Antonio Sánchez Garache MSc.
Médico Veterinario - Virólogo
Clínica Veterinaria "Arca de Noé"

Dra. Nohemí del Socorro Pineda Sáenz MSc.
Directora del Laboratorio de Diagnostico Veterinario y
Microbiología de los Alimentos – Ministerio de Agricultura
y Ganadería (MAG)

Carrera de Medicina Veterinaria - Facultad de Ciencia
Animal - Universidad Nacional Agraria

Primera Edición en Español, 2014

Impreso en Managua, Nicaragua

*Todos los derechos reservados

Se propicia la amplia diseminación de este material impreso o electrónico. Sin embargo se prohíbe la modificación parcial o total de este material sin el consentimiento previo del autor.

PROLOGO

La necesidad de los Estados participantes del Libre Comercio de fortalecer sus servicios Veterinarios, para promover y proteger la salud animal y humana, al mismo tiempo que se facilita el comercio internacional, en el marco del Acuerdo de la Organización Mundial del Comercio sobre Medidas Sanitarias, ha obligado a los sectores de la Educación y Salud Animal a involucrarse en un proceso de modernización institucional para mejorar su eficiencia en la entrega de profesionales que den respuesta a las necesidades de la sociedad. Debido a esto y a la amplia escala de necesidades de la sociedad, es que la profesión de la Medicina Veterinaria debe estar preparada para intervenir y responder a tales necesidades; por lo que resulta esencial que las facultades de Medicina Veterinaria tengan las condiciones apropiadas para graduar profesionales con los conocimientos, habilidades y competencias requeridas para atenderlas. (OPS/OMS y AAVMC; 2007)

Cabe señalar que la situación actual del Diagnóstico Laboratorial en Nicaragua es aún insuficiente, por tanto en aras de mejorar la eficiencia de los profesionales de la Medicina Veterinaria que egresan de nuestra *Alma Mater*, se torna de vital importancia prepararlos en áreas seleccionadas de focalización profesional, empleando tecnología de previsión, con lo cual se podría enfrentar las necesidades anticipadas de la sociedad.

Entre las áreas de focalización profesional determinadas, está el desarrollar conocimientos y habilidades del Diagnóstico Laboratorial para confirmar, descartar o formular nuevas hipótesis diagnósticas. Es por ello que se consideró pertinente ofrecer en este **"Manual de Diagnostico con Énfasis en Laboratorio Clínico Veterinario"**, una exposición clara, paso a paso con toda la información necesaria acerca de las características de un laboratorio clínico y cuáles deben ser las "Buenas Practicas de Laboratorio", la extracción, conservación y remisión de los diferentes tipos de muestras, las metodologías e interpretación de los resultados en las áreas de Hematología, Urianalisis, Examen de Piel y Examen Coprológico; así como también la inclusión de Valores de Referencia, permitiendo así que tanto el estudiante de Medicina Veterinaria, como el Profesional en el ejercicio clínico, logren un Diagnóstico más acertado.

Es preciso señalar que este ha sido el esfuerzo de muchas horas y años de estudio, revisión y sistematización bibliográfica e integración al Laboratorio Clínico (incipiente aun en nuestra Facultad) por parte del autor de dicho Manual, que en conjunto con la conducción de su Tutor, notaron la necesidad de diseñar un Manual de fácil comprensión y permitiese al lector asimilar la información mediante procedimientos específicos descritos (tablas, ilustraciones), que destacan la información más importante y los procedimientos claves para un Diagnóstico certero.

En la escritura de este **"Manual de Diagnostico con Énfasis en Laboratorio Clínico Veterinario"** se ha plasmado una variedad de conocimientos técnicos - científicos en el campo laboratorial, con la finalidad de servir como herramienta de apoyo y que pudiese conducir de la mano al estudiante de último año de la carrera en el procesamiento e interpretación de los resultados obtenidos, y que mediante la aplicación de los conocimientos técnicos y científicos adquiridos, logre realizar investigaciones científicas y de renovación tecnológica en el campo de la Medicina Veterinaria, velando de esta forma por la salud y bienestar de los animales y de la salud humana.

Para finalizar, es de relevancia mencionar que este **"Manual de Diagnostico con Énfasis en Laboratorio Clínico Veterinario"** fue sometido a revisión a Colegas Médicos Veterinarios, Profesionales de muchos años de experiencia en el ejercicio del Diagnóstico Laboratorial, como son los que a continuación cito: la **Dra. Marlen Lacayo de Mora MSc.,** Directora del Laboratorio Clínico del Centro de Diagnóstico Veterinario "Las Colinas Sur", el **Dr. José A. Sánchez Garache MSc.** Médico Veterinario – Virólogo y Director de la Clínica Veterinaria "Arca de Noé" y la **Dra. Nohemí S. Pineda Sáenz con MSc.** actual Directora del Laboratorio de Diagnostico Veterinario y Microbiología de los Alimentos del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG); quienes con mucho interés revisaron cada uno de los capítulos de este Manual, afirmando que dicho Manual puede ser utilizado como herramienta de consulta para la obtención del Diagnóstico Definitivo.

Personalmente como Miembro Fundador de la Carrera de Medicina Veterinaria en la Universidad Nacional Agraria, Catedrático en función desde 1988, y Vigilante de la preservación de la Carrera desde su creación, estoy segura que este tipo de Manuales, son de vital relevancia para el fortalecimiento de conocimientos específicos que permitirán a los futuros Médicos Veterinarios que egresaran de nuestra *Alma Mater*, poder insertarse en cada una de los retos que se les demande en el contexto actual y a los que ya se encuentran en el ejercicio profesional comprenderán la necesidad de actualizarse en este campo Medico.

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
RECINTO UNIVERSITARIO "JUAN FCO. PALUACA"
FACULTAD DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO
VETERINARIA

Dra. Mireya S. Lamping Larios MSc.
Médico Veterinario / Catedrático
Jefa Dpto. de Medicina Veterinaria - FACA/UNA

DEDICATORIA

A el Eterno Dios, por haberme dado la bendición más grande que es la vida; así como también la sabiduría, el entendimiento y la perseverancia necesaria para superar cada uno de los obstáculos; logrando así, el haber terminado mi formación profesional como Médico Veterinario.

A mis Padres, Dra. Mireya S. Lamping Larios MSc. y Lic. Felipe M. Gallo Castillo por todo su amor, cariño, comprensión y dedicación, el haberme formado en los valores éticos y morales; así como también, por estar siempre a mi lado apoyándome y guiándome durante todo el camino.

A mi Tutor, Dr. Mauricio D. Silva Torres MSc., al guiarme durante todo el proceso de elaboración de este Trabajo de Graduación, por su valiosa apoyo y consejos, principalmente por su paciencia para conmigo. Por compartir sus conocimientos clínicos y motivación en la importancia del Diagnóstico Clínico Laboratorial.

En Memoria, del Dr. Otilio González Obando MSc. Q.E.P.D., Miembro Fundador de la Facultad de Ciencia Animal y la Carrera de Medicina Veterinaria; que con su tenacidad y empeño por el desarrollo de la carrera, facilito la formación de profesionales Nicaragüenses, que atendiesen la salud animal en nuestro país.

Cesar Adonis Gallo Lamping

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Nacional Agraria, a todas las Autoridades que dirigen esta Institución; así como a todos y cada uno de los Docentes que me impartieron las diferentes asignaturas durante el desarrollo del pensum de la carrera de Medicina Veterinaria.

A mi Tutor el Dr. Mauricio Silva Torres MSc. por sus conocimientos clínicos y de diagnóstico, sus consejos, su sinceridad, profesionalismo; así como por su disposición incondicional de enseñarme y conducirme durante este trayecto como profesional, hasta haber culminado este Trabajo de Graduación.

De forma especial quiero agradecer a la Dra. Mireya Lamping Larios MSc., quien no solo es mi Asesora, sino también mi Madre, la cual es fuente de inspiración y de orgullo. Una persona dedicada y la cual me ha motivado siempre a seguir adelante, superando cada obstáculo que pueda presentarse; desarrollando en mí, fuertes valores espirituales, morales y éticos.

Agradezco a mi Padre el Lic. Felipe Gallo Castillo, quien con su fuerte convicción y tenacidad, su profesionalismo; me sirvieron de ejemplo para ser el hombre que soy ahora.

A mi novia y colega, quien me brindo siempre todo su apoyo y paciencia; una mujer incondicional y admirable, la cual siempre me motivo a ser cada día mejor.

Un agradecimiento especial a mis Revisores la Dra. Marlen Lacayo MSc., la Dra. Nohemí Pineda MSc. y el Dr. Antonio Sánchez MSc.; por el tiempo que dedicaron a la revisión de este Trabajo de Culminación, así como los valiosos aportes, acertadas sugerencias, que permitieron fortalecer la escritura de este Manual.

Igualmente deseo expresar, una sentida y profunda gratitud compañeros de la Universidad, quienes además de brindarme su amistad, me alentaron siempre a seguir adelante.

A todas aquellas personas que de una u otra manera me han apoyado, les agradezco inmensamente el tiempo compartido, la dedicación y conocimiento que me brindaron para la culminación de este Trabajo de Graduación.

Cesar Adonis Gallo Lamping

INDICE

Introducción 1
Capitulo I. Introducción al Laboratorio Clínico Veterinario 3
1.1. Generalidades 3
1.2. Infraestructura del Laboratorio 4
1.3. Buenas Practicas de Laboratorio 7
Capitulo II. Extracción, Conservación y Remisión de Muestras 20
2.1. Muestras de Sangre 20
2.2. Muestras de Orina 31
2.3. Muestras de Piel 36
2.4. Muestras de Material Fecal 37
2.5. Remisión de Muestras 38
Capitulo III. Hematología en Mamíferos 40
3.1. Generalidades 40
3.2. Frotis Sanguíneo 42
3.2.1. Preparación del Frotis Sanguíneo 42
3.2.2. Tinción del Frotis Sanguíneo 45
3.2.3. Estudio del Frotis Teñido 48
3.3. Serie Roja 49
3.3.1. Generalidades 49
3.3.2. Evaluación Laboratorial de los Eritrocitos 52
3.3.3. Alteraciones de la Serie Roja 59
3.4. Serie Blanca 77
3.4.1. Generalidades 77
3.4.2. Evaluación Laboratorial de los Leucocitos 84
3.4.3. Interpretación de las Respuestas Leucocitarias 87
3.5. Trombocitos 96
3.5.1. Generalidades 97
3.5.2. Evaluación Laboratorial de los Trombocitos 98
3.5.3. Evaluación de las Alteraciones Plaquetarias 101
3.6. Proteína Plasmática 105
3.6.1. Generalidades 105
3.6.2. Determinación de Proteínas Plasmáticas 106
3.6.3. Alteraciones en las Proteínas Plasmáticas 107
3.7. Diagnóstico de Hematozoarios 108
3.7.1. Generalidades 108
3.7.2. Babesiosis 108
3.7.3. Anaplasmosis 112
3.7.4. Mycoplasmosis 115
3.7.5. Ehrlichiosis 117
3.7.6. Hepatozoonosis 118
Capítulo IV. Urianalisis 119
4.1. Generalidades 119
4.2. Examen Físico 120
4.3. Examen Químico 125

4.3.1. Densidad **125**
4.3.2. Concentración de Hidrogeniones (pH) **127**
4.3.3. Proteína **129**
4.3.4. Glucosa **131**
4.3.5. Cuerpos Cetonicos **133**
4.3.6. Bilirrubina **135**
4.3.7. Urobilinogeno **137**
4.3.8. Nitritos **138**
4.3.9. Sangre **139**
4.3.10. Método Semi-automatizado **142**
4.4. Examen Microscópico del Sedimento Urinario **144**
4.5. Interpretación de los Hallazgos del Sedimento Urinario **146**
4.5.1. Estructuras Organizadas **146**
4.5.2. Estructuras No Organizadas **153**
4.5.3. Artefactos y Materiales Extraños **160**
Capítulo V. Examen de Piel **161**
5.1. Generalidades **161**
5.2. Identificación de Dermatofitos **163**
5.2.1. Prueba de Fluorescencia **164**
5.2.2. Método de Examen Directo **165**
5.3. Galería para la Identificación de Dermatofitos **166**
5.4. Identificación De Ácaros **168**
5.4.1. Especies de Ácaros **168**
5.4.2. Métodos para Identificación de Ácaros **170**
5.5. Galería para la Identificación de Ácaros **171**
Capítulo VI. Examen Coprológico **173**
6.1. Generalidades **173**
6.2. Examen Macroscópico **173**
6.3. Prueba de Sangre Oculta en Heces **176**
6.4. Examen Cualitativo **176**
6.4.1. Frotis Directo **177**
6.4.2. Métodos de Concentración **178**
6.4.2.1. Flotación **178**
6.4.2.2. Sedimentación **179**
6.4.2.3. Sedimentación – Flotación **180**
6.5. Galería para la Identificación de Huevos de Parásitos **181**
6.6. Examen Cuantitativo **190**
Apéndice I. Valores de Referencia **193**
Glosario **199**
Literatura Consultada **208**

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1.1. Pictogramas de Peligro, Seguridad e Informativos **15**
Cuadro 2.1. Código de Color para Agujas Hipodérmicas y Catéter Endovenoso **28**
Cuadro 2.2. Principales Anticoagulantes y sus Características Principales **29**
Cuadro 2.3. Código de Color para Tubos Colectores de Sangre **30**
Cuadro 2.4. Cantidad de Especímenes a Muestrear Según la Población **38**
Cuadro 3.1. Composición de la Sangre **40**
Cuadro 3.2. Causas y Soluciones de las Extensiones de Mala Calidad **44**
Cuadro 3.3. Rasgos Morfológicos de Eritrocitos Normales **51**
Cuadro 3.4. Causas de Alteración del Volumen Corpuscular Medio **61**
Cuadro 3.5. Causas de Alteración de la Concentración Media de Hemoglobina Corpuscular **63**
Cuadro 3.6. Causas por Perdida de Sangre **66**
Cuadro 3.7. Causas por Destrucción Acelerada de Eritrocitos **68**
Cuadro 3.8. Causas de Eritropoyesis Reducida o Defectuosa **69**
Cuadro 3.9. Variaciones Morfológicas de los Eritrocitos y sus Causas **71**
Cuadro 3.10. Factores que Diferencian Monocitos con el Núcleo en Forma de U de los Neutrófilos en Banda **83**
Cuadro 4.1. Interpretación de los Cambios de Color en la Orina **121**
Cuadro 4.2. Clasificación de las Alteraciones Urinarias teniendo en cuenta el Volumen y Densidad **126**
Cuadro 4.3. Clasificación de las Proteinurias en Función de su Intensidad **131**
Cuadro 4.4. Causas de una Prueba de Sangre Oculta Positiva y su Diferenciación **140**
Cuadro 4.5. Orden y Tiempo de Lectura de los Principales Parámetros Evaluados para el Examen Químico de la Orina **143**
Cuadro 4.6. Cristales en el Sedimento Urinario **154**
Cuadro 5.1. Funciones de la Piel Relacionados con la Homeostasia **161**
Cuadro 5.2. Principales Especies de Dermatofitos de los Géneros *Microsporum* y *Trichophyton* **163**
Cuadro 5.3. Caracteres Diferenciales de los Dermatofitos Comunes **164**
Cuadro 6.1. Interpretación de Color de las Heces **174**
Cuadro 6.2. Términos Cualitativos para el Grado de Infección **176**
Cuadro 6.3. Principales Parásitos en Rumiantes **181**
Cuadro 6.4. Principales Parásitos en Porcinos **184**
Cuadro 6.5. Principales Parásitos en Equinos **185**
Cuadro 6.6. Principales Parásitos en Caninos y Felinos **187**
Cuadro 6.7. Grados de Infección Dependiendo del Parasito Infectante **192**
Cuadro A1.1. Valores de Referencia Hematológicos **194**
Cuadro A1.2.1. Valores de Referencia en el Examen Físico de la Orina **195**
Cuadro A1.2.2. Valores de Referencia en el Examen Químico de la Orina **195**
Cuadro A1.2.3.1. Valores de Referencia en el Examen Microscópico del Sedimento Urinario – Estructuras Organizadas **196**
Cuadro A1.2.3.2. Valores de Referencia en el Examen Microscópico del Sedimento Urinario – Estructuras No Organizadas **196**
Cuadro A1.2.3.2.1. Elementos Mineraloides **197**
Cuadro A1.3. Principales Dermatofitos que Afectan a las Especies Domesticas **197**
Cuadro A1.4. Principales Ácaros que Afectan a las Especies Domesticas **198**
Cuadro A1.5. Principales Hematozoarios que Afectan a las Especies Domesticas **198**

INTRODUCCION

La Patología Clínica, Análisis Clínicos o en palabras más sencillas, el Laboratorio Clínico; no es más que la aplicación de los métodos de laboratorio y el uso de los resultados en la solución de los problemas clínicos (Medway *et al*. 1973)**.**

En los últimos años ha venido creciendo el uso del Laboratorio Clínico, como una herramienta de diagnóstico como auxilio al clínico. La correlación de los resultados de laboratorio, junto con los del historial clínico del paciente permiten al clínico llegar a un diagnóstico más acertado, y tomar en cuenta las diferentes variables, para adoptar la mejor terapia de respuesta a lo que afecta a nuestro paciente (Messeguer *et al.* 1992).

Las disciplinas implicadas son variadas, pero en general incluyen todo procedimiento de laboratorio aplicado al estudio de las enfermedades en los seres vivos. En el diagnóstico de la enfermedad, por tanto el Clínico y el Patólogo Clínico deben ser considerados como una unidad (Medway *et al*. 1973).

Es un hecho perfectamente constatado, que en los momentos actuales, el clínico no puede, o cuando menos no debe, prescindir del laboratorio. Si bien es cierto que una anamnesis bien hecha facilita mucho las cosas a la hora de emitir un diagnóstico y que el llamado "Ojo Clínico", permite a algunos diagnosticar un proceso tras una somera exploración, no lo es menos, que el uso del laboratorio permite ratificar, o en su caso rectificar, ese diagnóstico que, tras exhaustiva exploración, el clínico había intuido. Sería un lujo que a veces podría pagarse con graves errores, el no tener en cuenta esa fuente tan importante de información que suponen los análisis clínicos (Messeguer *et al*. 1992).

Dentro de las principales indicaciones para la realización de exámenes de laboratorio se destacan: **1)** la confirmación de la presencia o de la causa de una enfermedad, **2)** la determinación de un pronóstico más exacto, **3)** la evaluación de las alteraciones funcionales de algún sistema orgánico, **4)** la evaluación de la respuesta al tratamiento, **5)** el monitoreo del progreso de una enfermedad, **6)** la evaluación del estado inmunológico de un animal o de un hato (Jardon *et al.* 2003).

Según Bush (1999), en la actualidad el uso del laboratorio clínico no se ha integrado como rutina a la práctica médica, debido a razones innumerables; entre las más frecuentes se pueden mencionar:

1. En muchos casos no es necesario efectuar pruebas de laboratorio, ya que clínicamente se puede llegar al diagnóstico o solucionar el problema.

2. La inexperiencia, que se traduce en un empleo mínimo o nulo del laboratorio.

3. Negligencia médica, ya sea por parte de los Médicos Veterinarios o del Propietario.

4. El propietario no dispone de recursos económicos.

5. Los laboratorios son poco confiables si no cuentan con un Patólogo Clínico que mantenga un control de calidad aceptable y una interacción con los médicos.

6. Entrega tardía de resultados, esta es una muy importante causa de abandono del laboratorio; para que los resultados sean útiles para la solución de casos, deben obtenerse en poco tiempo, en ocasiones en no más de 24 horas.

7. No hay acceso a laboratorios cercanos. Esto hace difícil la práctica de la medicina veterinaria; aunque desarrolla más habilidades clínicas.

Las limitaciones más serias a la completa utilización de los datos de laboratorio están en la fase de interpretación y es esencial reconocer que tales datos solo adquieren significación cuando son interpretados correctamente por el clínico y el patólogo. Es por ello que para la interpretación de los resultados se debe estar siempre atento a la especie animal examinada teniendo en vista las distintas particularidades dentro de estas, desde la respuesta sistémica frente a las diferentes enfermedades, hasta los valores fisiológicos de referencia, considerados "normales" para cada especie (Medway *et al*. 1973).

El Diagnóstico de Laboratorio puede y debe ejercer su papel como herramienta de diagnóstico para el clínico, entre tantos se debe siempre tener en mente que los exámenes complementarios deben ser solicitados después de un exhaustivo examen clínico del paciente y la formulación de las posibles hipótesis diagnósticas (Jardon *et al.* 2003).

La falta de instrumentos para el diagnóstico será frecuentemente la barrera entre lo preciso y lo intuitivo, aunque también hay que considerar que el laboratorio no tiene que ser una panacea, se debe emplear cuando se requiera, cuando esté indicado, no cuando lo pida el propietario (Bush 1999).

Es aquí donde se vislumbra la inminente necesidad, de un Libro de Texto, Manual, donde se hayan recopilados los Análisis Clínicos básicos, elementales, imprescindibles; que le permita al Médico Veterinario expandir su criterio de búsqueda de un diagnóstico acertado, y así poder proporcionar un pronóstico más veras y una terapia efectiva.

La idea de un Libro de Texto con la temática de los Exámenes complementarios, radica en que su principal función sea la de un documento de apoyo y consulta rápida, para el Médico Veterinario; donde se plasman los Análisis Clínicos básicos que deben conocer, y como se interpretan los resultados obtenidos, logrando así dictaminar un diagnóstico acertado.

CAPITULO I.

INTRODUCCION AL LABORATORIO CLINICO VETERINARIO

"La patología clínica o medicina del laboratorio, es una frontera entre la ciencia básica y la ciencia aplicada" (Terres 2009).

1.1. GENERALIDADES

El Laboratorio Clínico es el espacio físico donde se efectúan una gran diversidad de procedimientos médicos, científicos, técnicos, etc., que en conjunto representan un valioso recurso de la clínica al documentar el estado de salud (Medicina Preventiva) o de enfermedad (Medicina Curativa). Existe una única razón por la que el médico veterinario envía la muestra al laboratorio, y esta es que necesita información para tomar decisiones adecuadas; ya que el clínico solo observa en el paciente una serie de manifestaciones clínicas, como signos, síntomas y/o síndromes, que no puede cuantificar por lo que deben ser traducidos a datos concretos (Terres 2009).

Los diversos Laboratorios Clínicos, se pueden clasificar en:

- Laboratorios de Referencia: laboratorio de reconocido nivel de capacitación científica y diagnostica en lo que concierne a una determinada enfermedad o enfermedades animales y/o a metodología de pruebas; incluye la capacidad para describir y evaluar los reactivos, entre otros.

- Laboratorio Dependiente: aquel que desde el punto de vista institucional, patrimonial, administrativo, laboral, técnico, científico, presupuestal y financiero; constituye una unidad integral con la institución o empresa a la cual pertenece.

- Laboratorio Privado: aquel que ostenta patrimonio propio e independiente, autonomía administrativa, presupuestal y financiera; cuenta con una dirección y orientación autónoma, y que presta sus servicios al público en general, a la institución o empresa que lo solicite.

- Laboratorio Registrado: toda persona natural o jurídica con domicilio en el país, que ejerce la actividad de diagnóstico veterinario o con fines de investigación zoosanitaria.

La función primordial del Laboratorio Clínico, es la de "efectuar determinaciones analíticas cualitativas y cuantitativas de líquidos orgánicos, como: sangre, orina, líquido cefalorraquídeo, etc.; así como heces y otras sustancias". Con objetivos específicos de: Detectar enfermedades asintomáticas, Confirmar el diagnóstico, Establecer el pronóstico, Evaluar el tratamiento, Proporcionar información estadística-epidemiológica, Detección, manejo y control de problemas de salud pública, entre otros.

Los laboratorios de análisis clínicos, de acuerdo a sus funciones, se pueden dividir en:

a. Laboratorios de Rutina o de Seguimiento: comprenden 5 departamentos básicos, como son; Hematología, Química Clínica, Inmunología, Microbiología Diagnostica y Parasitología Clínica. Estos pueden encontrarse dentro de un Hospital, Clínica o ser externos a este.
   - ✓ Laboratorios Hospitalarios, con frecuencia tiene secciones consideradas de urgencia, donde se realizan estudios que servirán para tomar decisiones críticas, en la atención a pacientes graves.

b. Laboratorios Especializados: en estos laboratorios se realizan estudios más sofisticados, utilizando tecnologías más avanzadas, las cuales requieren de instalaciones y adiestramiento especial del personal que las realiza. Con frecuencia estos laboratorios forman parte de programas de investigación.

Existen múltiples cambios que pueden afectar la práctica en el laboratorio clínico, como son: El alto volumen de estudios que se realizan, La gran variedad de pruebas disponibles, El surgimiento rápido y constante de nuevas metodologías, La insuficiente preparación de recursos humanos, La escasez de recursos económicos, La realización de pruebas rápidas en consultorios o farmacias, El desconocimiento del público y la desinformación del médico sobre problemas de variabilidad biológica y variabilidad analítica, La interpretación incorrecta de los resultados, La toma de decisiones equivocada.

1.2. INFRAESTRUCTURA DEL LABORATORIO

Las instalaciones deben estar ubicadas, designadas, construidas, adaptadas y mantenidas de tal forma que sean apropiadas para las pruebas o técnicas de laboratorio estipuladas por el laboratorio. Es necesario que estas instalaciones permitan una limpieza adecuada y mantenimiento del orden, a fin de evitar la contaminación cruzada, polvo, suciedad y en general toda condición que pueda representar riesgo de contaminación.

Con el objetivo de reducir al mínimo el riesgo biológico o contaminaciones cruzadas se debe contar con instalaciones independientes y autónomas; las cuales poseen sus propios requerimientos de diseño dependiendo del Nivel de Seguridad del laboratorio, fomentando siempre la Bioseguridad. Por tanto un tipo de clasificación para las áreas que compone un laboratorio, pueden ser el siguiente:

A. Área de Recepción: es el lugar donde se realiza la recepción de los pacientes y solicitudes de exámenes; así como también la recepción de las muestras que envían de otros lugares, se encarga de la entrega de los resultados y el cobro por los servicios brindados.

B. Área Administrativa: Aquella donde se realizan todas las actividades administrativas (contabilidad, planeación de actividades, etc.) así como el principal lugar de almacenamiento y resguardo de la Documentación (guías, manuales, perfil de cargos, hojas de vida y contratos, inventario, convenios, entre otros).

C. Área de Toma de Muestras: Área donde se realiza la extracción de la muestra para el examen solicitado, así como todos los materiales y medios necesarios para realizar la extracción de los diferentes tipos de muestras.

D. Área de Procesamiento de Muestras: Son las todas aquellas zonas designadas para la realización de los procesamientos de las diferentes muestras, equipados con los equipos, materiales, soluciones y reactivos necesarios para dicho fin. Según los análisis y muestra con que se trabaje, se pueden dividir en diferentes áreas, como son las siguientes: Hematología, Urianalisis, Microbiología, Bioquímica Sanguínea, Serología, Enzimología, Parasitología, Ex. Misceláneos, entre otros.

E. Área de Almacenamiento: Es el área designada para el resguardo de reactivos, soluciones, materiales e insumos; así como también se puede designar una sección de esta área para el almacenamiento de los equipos defectuosos o que se les dará mantenimiento o reparación.

F. Área de Esterilización y Desinfección: Lugar designado para la limpieza y desinfección de los materiales de laboratorio, así como la esterilización y eliminación de los desechos y contaminantes.

G. Áreas Accesorias: Aquellas que comprenden específicamente el Área del personal (cambio de ropa, almacenamiento de artículos personales, entre otros), Área de descanso del personal (sala común, cocina, etc.), Servicios higiénicos, Área para los artículos del personal de limpieza, Sala de Espera, etc.

Las instalaciones también pueden clasificarse en: **Áreas Principales** (Área Administrativa, Área de Extracción de Muestras, Área de Procesamiento de Muestras, Área de Esterilización y Desinfección, Área de Almacenamiento) y **Áreas Accesorias** (Área del Personal, Área de descanso del personal, Servicios Higiénicos, Área de Recepción y Espera). Estas áreas poseen sus propios parámetros en cuanto a seguridad e instalaciones y que deben ser respetados, logrando así un mínimo de riesgo biológico, contaminación cruzada, y el buen funcionamiento del laboratorio en las actividades y procedimientos que realiza.

❖ **Áreas Principales**

- Instalaciones que garanticen la completa independencia del área administrativa y área de procesamiento y realización de análisis de laboratorio o pruebas de diagnóstico.
- Iluminación con intensidad suficiente para la visualización del trabajo que se realice.
- Mesones, paredes, pisos y techos deben ser lisos, y que permitan rutinas de limpieza y desinfección ya sea química o por aplicación de vapor.
- Áreas identificadas apropiadamente, con señalización convencional (signos de riesgo biológico, acceso restringido, etc.) y designación/identificación de las áreas de acuerdo a la actividad que se realice.
- El área de almacenamiento debe tener capacidad suficiente para el mantenimiento ordenado de materiales y productos de diversas categorías.
- Las áreas de trabajo y almacenamiento deben permitir la ubicación lógica de los equipos y materiales, de tal forma que se reduzca al mínimo el riesgo de contaminación o de confusión entre estos.
- Instalaciones sanitarias en cantidad y calidad suficientes para el personal de laboratorio.
- Área de procesamiento y realización de las pruebas diagnósticas, debe contar con lavamanos independiente.
- Puertas de las áreas de manejo y procesamiento de muestras, deben permanecer siempre cerradas y con la señalización de "Acceso Restringido a Personal No Autorizado"; así como señalización que no debe consumirse alimentos ni fumar.
- Laboratorios que manejen aislamientos de microorganismos deben presentar la infraestructura básica de acuerdo al tipo de agente patógeno, complementada con Cabina de Seguridad Biológica tipo IIA.

❖ **Áreas Accesorias**

- Sitios para descansar, consumir alimentos o bebidas se deben encontrar dispuestos fuera de las zonas de trabajo y usados solo en los horarios dispuestos para ello.

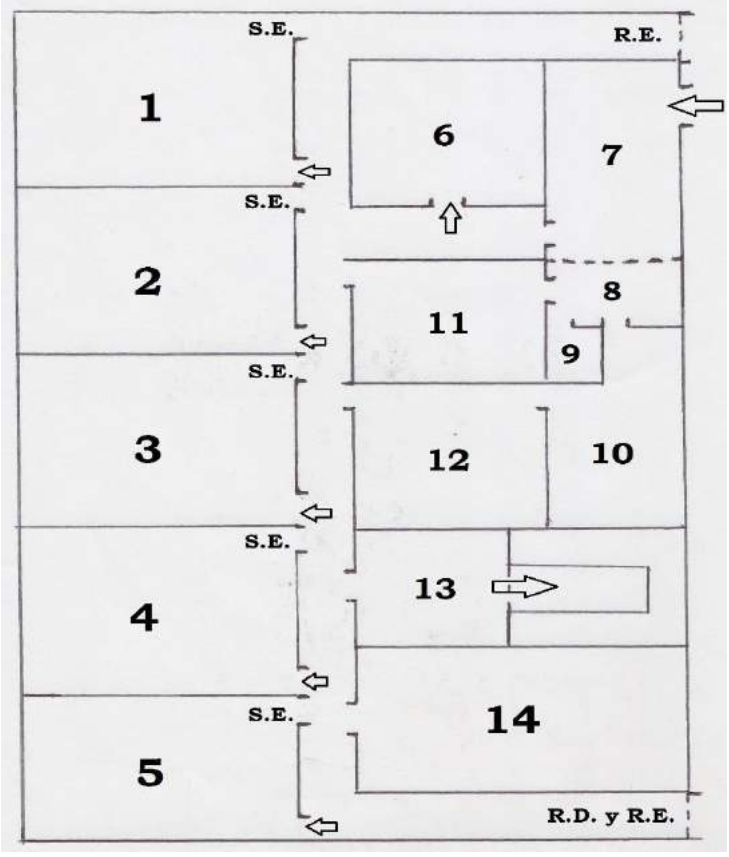
- En las zonas de descanso no se debe usar los artículos de protección personal (gabachas, guantes, mascarillas o gorros, etc.) y se deben desinfectar las suelas de los zapatos empleando tapetes sanitarios.
- Instalaciones destinadas al cambio de ropa y su guarda, así como también las de limpieza y arreglo personal deben tener fácil acceso y ser adecuadas al número de usuarios.
- Los servicios sanitarios no deben comunicarse con las áreas principales ni de almacenamiento.

Todo laboratorio, no importando el área y/o actividad que se realice, debe contar con los siguientes requerimientos básicos:

- Iluminación adecuada y Lámparas de emergencia.
- Techos, paredes y suelos/pisos; deben ser lisos y antideslizantes.
- Pasillos con un espacio libre no inferior a 120 cm.
- Mobiliario adecuado para la actividad o procedimiento que se realizan.
- Disponer siempre de fregaderos con agua corriente, Zona de lavado (de manos y ojos).
- Extintores y Pictogramas.

Todas las áreas y las subdivisiones del laboratorio deben mantenerse ordenadas, limpias y libres de materiales no relacionados con el trabajo. Materiales de oficina o de limpieza, deben ser despejadas de las áreas de trabajo durante el desarrollo de las pruebas y ser de uso exclusivo de estas áreas.

Preferiblemente se debe disponer de un suministro de electricidad y de iluminación de emergencia que permita salir del laboratorio en condiciones de seguridad y aún mejor si se cuenta con una planta de emergencia que suministre electricidad a la red de congeladores.



1- Hematología y Química Sanguínea.
2- Urianalisis.
3- Parasitología.
4- Microbiología.
5- Análisis Misceláneos.
6- Administración.
7- Recepción.
8- Área de Espera.
9- Servicios Higiénicos.
10- Área de Descanso del Personal.
11- Área de Extracción de la Muestra.
12- Área del Personal.
13- Área de Almacenamiento.
14- Área de Desinfección y Esterilización.

S.E. = Salida de Emergencia.
R.E. = Ruta de Evacuación.
R.D. = Ruta de Desecho.

Fig. 1.1. Esquema de un Laboratorio Clínico

1.3. BUENAS PRACTICAS DE LABORATORIO

Las Buenas Prácticas de Laboratorio se definen como el conjunto de reglas, procedimientos operacionales, prácticas establecidas y promulgadas por determinadas organizaciones; consideradas de obligatorio cumplimiento para asegurar la calidad e integridad de los datos producidos en determinados procesos de laboratorio, con el fin de armonizar protocolos, información y documentación de los Procedimientos Operativos Estandarizados.

Es de primordial importancia que todos los profesionales de Laboratorio conozcan:

- El equipamiento del laboratorio.
- La metodología de trabajo del laboratorio.
- Los agentes, sustancias y productos peligrosos que existen en el laboratorio.
- Las medidas a tomar en caso de emergencia.

El Jefe de Laboratorio es responsable de velar por el cumplimiento de las normas y reglamentos que aseguren la protección del personal; pero todo el personal es responsable no sólo de su propia seguridad sino también la de sus compañeros de trabajo y el medio ambiente.

Cuando ocurre un accidente es fundamental que se haga un análisis de sus causas y se adopten medidas correctivas para evitar su repetición. Los accidentes biológicos se producen generalmente por: Aerosoles, Inoculación accidental, Derrames y salpicaduras, Heridas causadas por objetos punzantes o cortantes.

1.3.1. Niveles de Seguridad

Los Niveles de Bioseguridad representan aquellas condiciones bajo las cuales el agente puede comúnmente manipularse en forma segura. Se describen cuatro niveles de bioseguridad, que constan de combinaciones de prácticas y técnicas de laboratorio, equipos de seguridad e instalaciones de laboratorio; siendo el director del laboratorio la persona específica y principal responsable de evaluar los riesgos y aplicar adecuadamente los niveles de bioseguridad recomendados.

A. Nivel de Bioseguridad I

Las prácticas, equipos de seguridad, diseño y construcción de la instalación del Nivel de Bioseguridad I son adecuados para laboratorios destinados a la educación o capacitación secundaria o universitaria, y para otros laboratorios en los cuales se trabaja con cepas definidas y caracterizadas de microorganismos viables que no se conocen como generadores sistemáticos de enfermedades. El Nivel de Bioseguridad I representa un nivel básico de contención que se basa en prácticas de bioseguridad estándar sin ninguna barrera primaria o secundaria especialmente recomendada.

B. Nivel de Bioseguridad II

Las prácticas, los equipos, el diseño y la construcción de instalaciones del Nivel de Bioseguridad II son aplicables a laboratorios educativos, de diagnóstico, clínicos u otros laboratorios donde se trabaja con un amplio espectro de agentes de riesgo moderado que se encuentran presentes en la comunidad y asociados con enfermedad humana de variada gravedad. El Nivel de Bioseguridad II es adecuado cuando se trabaja con sangre, fluidos corporales o tejidos; siendo que los riesgos primarios del personal que trabaja con

estos agentes están relacionados con exposiciones accidentales de membranas mucosas o percutáneas, o ingestión de materiales infecciosos.

C. Nivel de Bioseguridad III

Las prácticas, equipos de seguridad y el diseño y la construcción de las instalaciones del Nivel de Bioseguridad III pueden aplicarse a instalaciones clínicas, de producción, investigación, educación o diagnóstico, donde se trabaja con agentes exóticos con potencial de transmisión respiratoria, y que pueden provocar una infección grave y potencialmente letal. Los riesgos primarios del personal que trabaja con estos agentes están asociados a la auto-inoculación, ingestión y exposición a aerosoles infecciosos.

D. Nivel de Bioseguridad IV

Las prácticas, equipos de seguridad, el diseño y la construcción de instalaciones del Nivel de Bioseguridad IV son aplicables al trabajo con agentes peligrosos o tóxicos que representan un alto riesgo individual de enfermedades que ponen en peligro la vida, y que pueden transmitirse a través de aerosoles y para las cuales no existen vacunas o terapias disponibles. Los riesgos principales para el personal son la exposición respiratoria a aerosoles infecciosos, la exposición de membranas mucosas o piel lastimada a gotitas infecciosas y la auto-inoculación.

Por lo general, la instalación del Nivel de Bioseguridad IV es un edificio separado o una zona totalmente aislada con sistemas de gestión de desechos y requisitos de ventilación especializados y complejos para prevenir la liberación de agentes viables al medio ambiente.

1.3.2. Requisitos de Documentación

Son aquellos que cuentan con los procedimientos escritos y registros de todas las actividades, además de las relacionadas con Bioseguridad y Buenas Prácticas de Laboratorio; así como con un sistema de administración de la documentación donde se debe incluir un listado maestro de documentos, versiones actualizadas y manejo de versiones obsoletas. La documentación electrónica debe ser archivada por al menos un año.

Entre los principales documentos con los que debe contar, se encuentran los siguientes:

- Lista de Exámenes Habilitados y Autorizados para su nivel de complejidad. Ejemplo Patología Clínica, Parasitología, Bacteriología, Serología, Histopatología, Virología, entre otros.
- Inventario de: Mobiliario, Equipos, Material de vidrio y otros materiales, Reactivos y diagnosticadores.
- Manuales de: Organización y funciones, De Calidad, De Bioseguridad, Manejo de equipos, Toma y Transporte de muestras, De procedimientos o técnicas analíticas.
- Libros de: Registro de pacientes, Reporte de resultados. Entrega de resultados.
- Bibliografía de Referencia Obligatoria.
- Convenios con Laboratorios de mayor complejidad, para derivación de muestras.
- Hojas de vida de todo el personal.
- Perfiles de cargo: que deben incluir los requisitos necesarios de formación, conocimiento, experiencia, alcance y responsabilidad.

- Organigrama técnico administrativo.
- Registro de participación en actividades de capacitación y entrenamiento interno.
- Procedimientos escritos de: Control de documentos, Manejo de registros, Formas de protección de la información, Tiempo de retención documental.
- Atención de quejas y reclamos de los clientes.
- Procedimientos de: Desinfección, Esterilización, Lavado y manejo del material de laboratorio, Dotación del personal, Limpieza y desinfección de áreas de trabajo, Eliminación de desechos; así como de Seguridad química, eléctrica, protección contra incendios y el empleo del material de seguridad.

1.3.3. Requisitos de Personal

El establecimiento y mantenimiento de las normas de Bioseguridad y Bioproteccion en un Laboratorio Registrado dependerá de los recursos humanos, por lo que se debe contar con suficiente personal calificado para que el personal pueda realizar las tareas asignadas (pruebas o técnicas). Por tanto el laboratorio debe contar, con lo siguiente:

- Contar en la dirección científica con un Médico Veterinario o Médico Veterinario Zootecnista, que demuestre las condiciones de: experiencia, funciones y responsabilidades exigidas.
- Los cargos más importantes (Dirección Técnica y Responsable Principal del Laboratorio), deben llenarse con personal de tiempo completo cuyas responsabilidades no pueden ser delegadas.
- Disponer de un equipo de profesionales con formación y experiencia requeridas, con calificación que responda al nivel de complejidad de los análisis.
- Los expertos deben presentar su calificación (título universitario) que los acrediten como tales y poseer educación científica y experiencia práctica, que les permita tener criterio profesional independiente; basado en la aplicación de principios científicos a los problemas prácticos que se les planteen en el desarrollo de sus actividades.

1.3.3.1. Generalidades

- Todas las personas involucradas deben comprender claramente sus responsabilidades, las cuales deben determinarse por escrito; además deben conocer las reglas y normas de Bioseguridad y Bioproteccion.
- El laboratorio debe de contar con un número suficiente de personas con experiencia y calificaciones adecuadas, a las responsabilidades que se le asignen.
- Las responsabilidades asignadas a cada persona no deben ser tan numerosas, como para constituir un riesgo para la calidad de los procesos y de la generación de resultados.
- El laboratorio debe preparar un organigrama y las tareas específicas de cada individuo deben definirse por escrito. Las tareas solo pueden ser delegadas en personas idóneas que cumplan el mismo perfil de las personas a quienes están reemplazando.
- El laboratorio debe contar con un Plan impreso de Capacitación, estas deben ser registradas y evaluadas; las cuales deben comprender lo siguiente:
  - El personal de laboratorio debe ser capacitado y entrenado en forma continua en las áreas relacionadas con su desempeño.
  - Dentro de las actividades de capacitación se deben incluir las relacionadas en materia de calidad, bioseguridad, bioproteccion e higiene; teniendo en cuenta las normas nacionales y de laboratorio que sean pertinentes.

- Durante la capacitación se deben presentar procedimientos que describan los papeles y responsabilidades del personal en lo relativo a las áreas de su responsabilidad, incluyendo higiene, bioproteccion y bioseguridad; así como acciones en caso de infracciones de las normas.

1.3.3.2. Prácticas de Higiene

- Todo personal antes de ser contratado y durante el tiempo de empleo, debe someterse a exámenes médicos pertinentes.
- Si una persona presenta signos de enfermedad o sufre un accidente de trabajo con lesiones que puedan representar un riesgo para el mismo o para el desarrollo de su actividad, no debe permitírsele continuar con el trabajo hasta que la condición haya desaparecido.
- En el laboratorio debe prohibirse: fumar, ingerir alimentos o bebidas; así como también mantener plantas, medicamentos personales, alimentos o bebidas.
- Todo el personal debe recibir adiestramiento en las prácticas de higiene personal y poseer un alto nivel de higiene personal.
- El personal debe vestir ropa adecuada a las labores que realiza y la disposición de esta dotación debe cumplir con las condiciones de lavado y desinfección de acuerdo al nivel de bioseguridad.
- Personal con el cabello largo debe llevarlo recogido, y preferiblemente protegido con un gorro desechable.
- Mantener los elementos de protección personal en óptimas condiciones de aseo, en un lugar seguro y de fácil acceso.
- No deambular con los elementos de protección personal fuera del área de trabajo.
- Lavarse las manos al entrar al laboratorio, después de cada experimento, tras acabar la jornada laboral y siempre antes de abandonar el laboratorio para tomar alimentos. Se usará un jabón antiséptico y el secado con toallas de papel.
- No inhalar, probar u oler productos químicos si no están etiquetadas.
- **Nunca pipetear**.
- Cerrar herméticamente los frascos de productos químicos después de utilizarlos.

A. Vestimenta

- Mantener las uñas recortadas y limpias.
- Evitar peinados con copetes; si usa copete o cabello largo, recójalo y colóquese el gorro.
- Zapatos cerrados, de piso y con suela antiderrapante.
- Pantalón largo o falda mediana de fibra natural.
- Evite usar mangas largas y anchas, así como colgantes; en caso de usarlas, cubrirla y sujetarla completamente con las mangas de la bata.
  - Ya que estas pueden engancharse en los materiales y montaje de laboratorio, y evitar que estén cerca de llamas o maquinas eléctricas en funcionamiento.
- Retirar todos los accesorios personales que puedan comprender riesgos de accidentes (mecánicos, químicos o por fuego) como son: anillos, pulseras, collares y sombreros; si usa corbata, sujetarla con un pisacorbatas o introduciéndola a la camisa.
- Llevar en todo momento la gabacha, la cual debe ser larga (a la rodilla o pantorrilla), manga larga, con botones y de color blanca.

- Usar gafas de seguridad para evitar salpicaduras, los cuales deben ser de policarbonato o vidrio endurecido con protección lateral.
- Utilizar guantes, sobre todo cuando se manipulan sustancias corrosivas, toxicas, material caliente o frio y material biológico.
  - Guantes de látex para manejar ácidos débiles y cetonas.
  - Guantes de PVC para manejar ácidos y bases débiles.
  - Guantes de neopreno para manejar ácidos y solventes alifáticos.
  - Guantes de nitrilo para manejar solventes y derivados orgánicos.
  - Guantes térmicos de algodón o asbesto (para materiales calientes y fríos).
- Encendedor para mechero y/o cerillos.
- Franela de algodón limpia.

B. Lavado de Manos

Deben ser realizados inmediato, antes y después de:

- Luego de retirarse los guantes.
- Entre diferentes procedimientos efectuados en el mismo paciente.
- Luego de la manipulación de instrumentales o equipos, que hayan tenido contacto con superficies del ambiente y/o pacientes.
- Luego de manipular sangre, fluidos corporales, secreciones, excreciones, materiales e instrumentos contaminados, tanto se hayan usado o no guantes.

➢ Se debe usar:

- Jabón común neutro para el lavado de manos, de preferencia líquido.
- Jabón con detergente antimicrobiano o con agentes antisépticos en situaciones específicas (previo a procedimientos invasivos, unidades de alto riesgo, brotes epidemiológicos).

❖ **Técnica del Lavado de Manos:**

1. Subirse las mangas hasta el codo.
2. Retirar todas las prendas, como alhajas y reloj.
3. Mojarse las manos con agua corriente.
4. Aplicar 3 a 5 ml de jabón líquido.
5. Friccionar las superficies de la palma, manos y puño durante 10 a 15 segundos.
6. Enjuagar en agua corriente de arrastre.
7. Secar con toalla de papel, y cerrar el grifo con la toalla.

1.3.4. Requisitos sobre Equipos y Materiales

El laboratorio debe contar con un programa de mantenimiento y calibración de los equipos; así como también, contar con fichas técnicas y certificados de calibración para cada uno de los equipos empleados en el manejo de muestras, proceso analítico y su almacenamiento. Equipos defectuosos u obsoletos, deben ser eliminados de las áreas de trabajo o al menos ser identificados como “defectuosos” y/o “en mantenimiento”.

Existen ciertas reglas o normas que deben seguirse para la utilización correcta de los equipos del laboratorio, como son:

- Inspeccionar todos los equipos antes de su utilización.
- Limpiar los equipos después de cada uso y darle el uso adecuado a cada uno de los equipos.
- La última persona en salir del laboratorio, debe apagar y desenchufar los equipos.
- Elaborar plan de mantenimiento preventivo y de calibración.
- Todo equipo que requiera reparación técnica debe ser llevado a mantenimiento, previa desinfección y limpieza por parte del personal encargado del mismo.
- Equipos que estén en reparación o calibración; deben ser guardados y etiquetados.

Todo ingreso de materiales (insumos, reactivos, medios de cultivo) que ingresan al laboratorio deben ser registrados y controlados. Reactivos y medios de cultivo, al ser preparados por el personal del laboratorio, deben etiquetarse indicando: Concentración, Factor de normalización, Tiempo de conservación, Condiciones de almacenamiento, La etiqueta debe estar firmada y fechada por la persona que haya preparado el reactivo.

1.3.5. Requisitos sobre Bioseguridad y Bioproteccion

La Organización Mundial de la Salud (OMS), define:

- Bioseguridad: término para referirse a los principios, técnicas y prácticas aplicadas con el fin de evitar la exposición no intencional a patógenos y toxinas, o su liberación accidental.

- Bioproteccion (Protección Biológica): medidas de protección de la institución y del personal destinadas a reducir el riesgo de pérdida, robo, uso incorrecto o liberación intencional de patógenos o toxinas.

A. Para Ingresar al Laboratorio:

- Vestimenta apropiada del Personal:
  - Usar la bata cerrada durante toda la sesión, así como guantes y tapaboca, si es necesario.
  - Uso de credencial a modo de gafete, en esta se indicara: tipo sanguíneo, alergias, padecimientos crónicos o uso de prótesis.
- Portar la Bitácora de Laboratorio, la cual debe contener:
  - Información sobre los reactivos y los cálculos para preparar las soluciones que serán empleadas en la sesión.
  - Contar con los teléfonos de emergencia y con una tabla de los primeros auxilios; así como de las medidas de contingencia química más comunes.
  - Incorporar el protocolo del trabajo experimental y la lista de seguridad.
- Revisar el estado de la mesa de trabajo, del material y de los equipos recibidos; así como reportar cualquier falla o irregularidad. Todo material se debe lavar y secar antes de ser usado.

B. Para Permanecer en el Laboratorio:

- Seguir las medidas de seguridad con los equipos, materiales y reactivos de la sesión para prevenir accidentes.

- Tomar sólo las cantidades de reactivos necesarios para el trabajo experimental, y colocarlas en material de vidrio limpio y seco.
  - Etiquetar y rotular todos los recipientes donde se coloquen reactivos, productos y residuos.
- Mantener sólo el material requerido para la sesión sobre la mesa de trabajo. Los demás objetos personales o innecesarios, deben guardarse o colocarse lejos del área de trabajo.
- Todas las fuentes de fuego o calor deben estar controladas.
- No recibir visitas en el interior del laboratorio, evitando las distracciones. Así se pueden evitar accidentes.

C. Al Concluir la Sesión:

- Lavar el material, devolverlo limpio y seco. Retire las etiquetas de los materiales que contenían reactivos, productos o residuos.
- Disponer de los residuos y reactivos no utilizados de la manera indicada por las normas.
  - Reactivos no usados no se devuelven a los frascos, mientras que los frascos de reactivos puros deben regresarse al almacén.
- Dejar limpio y seco el lugar de trabajo, colocar los bancos junto a las mesas o invertidos sobre éstas.
- Antes de salir del laboratorio retirarse la bata y demás equipo de seguridad, guardándolo en una bolsa de plástico exclusiva para este uso.
  - La bata deberá lavarse al final de cada sesión.

1.3.5.1. Reglas y Normas de Bioseguridad General

- **El consumo de alimentos, bebidas o tabaco, está prohibido en todas las áreas de laboratorios o en los accesos de vestidores. De igual forma, está prohibido el pipeteo con la boca, la aplicación de maquillaje, o la manipulación de lentes de contacto.**
- Familiarización con los elementos de seguridad disponibles.
- Evitar el trabajo en el laboratorio de una sola persona.
- Señalización de las salidas de emergencia, elementos de primeros auxilios.
- Localizar salidas principales y de emergencia, extintores, duchas de seguridad, etc.

Los procedimientos realizados dentro del laboratorio deben atender a la reducción de riesgos en bioseguridad relacionados con:

- Reducción de formación de aerosoles en la centrífuga.
- Manejo de líquidos contaminados.
- Las superficies se deben desinfectar como mínimo una vez al día, con desinfectantes que garanticen la inactivación de los microorganismos.
  - Al iniciar y finalizar una actividad, e inmediatamente después de ocurrir una contaminación accidental.
  - Todas las superficies se deben limpiar y desinfectar con paños humedecidos, cuyo material sea de mínima liberación de partículas. No se debe permitir el uso de ceras escobas ni aspiradoras.
- Una vez sufrido o detectado un accidente relacionado con derrames y/o exposiciones de materiales infecciosos, se debe impedir que el área contaminada se extienda:

  - Primero se debe dar aviso al personal presente y solicitar ayuda si la ropa ha sido expuesta. El operario expuesto no debe retirarse del sitio del accidente hasta ser asistido por personal debidamente protegido.
  - Comunicar al responsable del laboratorio, quien debe mantener el registro escrito de los accidentes e incidentes.
  - Aplicar sobre el líquido derramado un bloque de toallas de papel para que el líquido sea absorbido por capilaridad. Cuando el bloque empiece a humedecerse externamente, retirarlo en bolsas rojas.
  - Una vez reducido el derrame, retirar el par externo de guantes, usar un segundo par nuevo y aplicar hipoclorito de sodio (5000 p.p.m.) empleando un paño, procurando no ampliar el área contaminada.
  - El proceso de desinfección y limpieza de las áreas afectadas, de las ropas y del exterior de las bolsas rojas, debe completarse antes de reiniciar el uso del área.
- Dentro de las medidas de contingencia se debe contemplar:
  - Manejo de emergencias.
  - Manejo de accidentes de trabajo, de accidentes biológicos.
  - Medidas de emergencia en caso de catástrofes naturales, incendios, inundaciones, etc.
  - Rutas de evacuación y números telefónicos de las autoridades de policía, bomberos, ambulancias, cuerpos de rescate; deben estar disponibles todo el tiempo.
- El sistema de protección contra incendios y emergencias eléctricas, duchas para casos de urgencia y equipo para el lavado de los ojos deben ser conocidos por todo el personal, y su uso debe limitarse solo a los casos reales o los ejercicios de simulacros dirigidos.
- En caso de requerirse primeros auxilios, se debe disponer de un sitio apropiado para tal fin, el cual debe estar equipado con un botiquín básico.

Cuadro 1.1. Pictogramas de Peligro, Seguridad e Informativos

Símbolo	Descripción	Símbolo	Descripción
	Uso Obligatorio de Gabacha		Uso Obligatorio de Guantes
	Símbolo de Prohibido Fumar		Lavaojos de Emergencia
	Símbolo de Prohibido Generar Llama Abierta e Introducir Objetos Incandescentes		Ducha de Emergencia

	Símbolo de Prohibido el Paso a Personal No Autorizado		Botiquín de Primeros Auxilios
	Advertencia de Riesgo Eléctrico		Salida de Emergencia
	Advertencia de Riesgo Biológico		Ruta de Evacuación

	Indicación General de Precaución		Precaución, Materiales Inflamables y Combustibles
	Precaución, Sustancia Toxica		Precaución, Materiales Oxidantes
	Precaución, Sustancias Corrosivas		Precaución, Materiales con Riesgo de Explosión

1.3.5.2. Manipulación de Desechos

Los profesionales y demás operarios generadores del material contaminado, deben responsabilizarse de la desinfección de los recipientes contenedores o del propio material en la fuente; evitando algún otro peligro biológico (químico o físico) para quienes realizan las operaciones de eliminación inmediata o quienes entran en contacto con los objetos o materiales desechados fuera del recinto del laboratorio.

El sistema de identificación y separación del material infeccioso y sus recipientes siguen las normas nacionales e internacionales, teniendo en cuenta las siguientes categorías:

A. Objetos cortopunzantes contaminados (infecciosos)

Objetos tales como agujas hipodérmicas, bisturís, cuchillas, vidrio roto; se recogerán siempre en recipientes a prueba de perforación dotados de tapa y deben ser tratados como material infeccioso. Los recipientes de eliminación de objetos cortantes y punzantes deben ser resistentes a la perforación y solo se deben llenar en sus ¾ partes, para después colocarlos en el recipiente de "Desechos Infecciosos" y esterilizarlos en la autoclave.

- Las agujas hipodérmicas no se deben volver a tapar, cortar ni retirar de las jeringuillas desechables después de utilizarlas; el conjunto completo debe colocarse en un recipiente de eliminación.

B. Desechos no contaminados o no infecciosos

Aquellos que se pueden reutilizar, reciclar o eliminar como "Basura Común". Deben ser dispuestos en bolsas negras, si se van a desechar en la ruta de basuras de uso doméstico o en bolsas verdes si su destino es el reciclaje.

C. Material contaminado reutilizable

Es el destinado al tratamiento en autoclave para que después pueda lavarse y volverse a utilizar o a reciclar. No se efectúa limpieza alguna de ningún material contaminado (potencialmente infeccioso) que vaya a ser tratado en autoclave y reutilizado; cualquier limpieza o reparación se debe realizar siempre después del paso por autoclave o la desinfección.

D. Material contaminado, Anatomopatológicos y Biosanitarios

Se consideran Desechos Anatomopatológicos los animales, órganos, tejidos o fluidos potencialmente contaminados; mientras que los Desechos Biosanitarios son aquellos materiales (gasas, toallas de papel, algodón, etc.) en contacto con fluidos orgánicos como sangre, suero, plasma, líquido cefalorraquídeo, entre otros. Estos serán dispuestos en bolsas rojas bien identificados y rotulados con el "Símbolo de Peligro Biológico", pasados por autoclave y posteriormente su eliminación.

- Procedimientos de Manipulación, Eliminación y Desechos Contaminados:

  - Todo material potencialmente contaminado, se debe disponer en bolsas plásticas de color rojo, que resistan el tratamiento en autoclave; debidamente identificadas y rotuladas como peligro biológico.

- Después de pasar por autoclave, el material se puede colocar en recipientes apropiados para ser transportados por la ruta biosanitaria o ser llevados al horno de crenación autorizado.
- Material procedente de actividades relacionadas con el manejo de microorganismos de riesgo biológico, no debe desecharse en fregaderos o vertederos, ni siquiera después de haber sido descontaminado.
- En cada puesto de trabajo deben colocarse recipientes irrompibles, tarros o cubetas identificados para desechos. Estos recipientes para desechos deben ser descontaminados y lavados antes de su reutilización.

- Manejo de Sustancias Infecciosas:

- Deben existir procedimientos escritos para el ingreso y salida de muestras potencialmente patógenas; así como los registros de su divulgación al personal responsable de esta actividad.
- Salida de recipientes o muestras que contengan material infeccioso deben ser autorizadas por el responsable.
- Transporte de sustancias infecciosas se debe hacer en envases cerrados, envueltas en material impregnado con un desinfectante, colocadas en un recipiente con tapa de rosca, y con el signo de riesgo biológico (sin identificar expresamente el agente infeccioso); adicionalmente deben ir dentro de otro recipiente de igual característica e igualmente rotulada con el signo de peligro biológico, con los nombres y direcciones remitentes de los responsables del envío y del destinatario.

1.3.5.3. Prevención y Manejo de Accidentes

- Utilizar en forma sistemática guantes plásticos o de látex en procedimientos que conlleven manipulación de elementos biológicos y cuando se maneje instrumental o equipo contaminado en la atención de muestras.
- El personal se debe abstener de tocar con las manos enguantadas alguna parte de su cuerpo y de manipular objetos diferentes a los requeridos durante el procedimiento.
- Emplear mascarilla y protectores oculares durante procedimientos que puedan generar salpicaduras o gotitas aerosoles, incluso delantal si fuese necesario.
- Manejar con estricta precaución los elementos corto-punzantes y desechar en los recipientes ubicados en los lugares adecuados, deben estar firmemente sujetos. Nunca cambiar elementos corto-punzantes de un recipiente a otro.
- Heridas y cortes, si se han producido en el laboratorio, deben ser comunicados al responsable, quien lo debe registrar haciendo constar todas las circunstancias relacionadas. Las heridas y cortes deben ser convenientemente vendados y después es imprescindible usar doble protección de guantes.
- En caso de ruptura del material de vidrio contaminado con sangre u otro líquido corporal los vidrios se deben recoger con escoba y recogedor; nunca con las manos.
- En caso de derrame o contaminación accidental de sangre u otros líquidos corporales sobre superficies de trabajo, se procede de la siguiente manera:
  - Cubrir con papel u otro material absorbente.
  - Esparcir hipoclorito de sodio a 5000 ppm o cualquier solución microbicida siguiendo las instrucciones del fabricante para su uso; luego repetir la misma operación.
  - Realizar limpieza con agua y jabón.
  - El personal encargado de realizar dicho procedimiento debe utilizar guantes, mascarilla.

CAPITULO II.

EXTRACCION, CONSERVACION Y REMISION DE MUESTRAS

"La muestra seleccionada para el laboratorio debe ser representativa del padecimiento" Coffin (1952).

2.1. MUESTRAS DE SANGRE

De una muestra de sangre pueden efectuarse distintas pruebas:

- Hematológico
- Bioquímico
- Bacteriológico
- Serológico
- Parasitológico
- Toxicológico

Para la realización de estos análisis pueden utilizarse 3 tipos de muestras:

- Sangre Entera: Recogida con anticoagulante. Se debe mantener refrigerada (4ºc), pudiendo conservarse un máximo de 24-48 h según las pruebas a realizar. El tubo se llena 2/3 partes, se homogeniza invirtiendo el tubo suavemente 5-10 veces.

- Plasma: Se obtiene por centrifugación de la sangre recogida con anticoagulante, aproximadamente a 3000 r.p.m. durante 10 a 15 minutos.

- Suero: Se recoge sin anticoagulante y se deja coagular hasta la retracción del coagulo, en posición de 30º (30 min. – 1 hora).

El almacenamiento del suero o del plasma ha de hacerse a bajas temperaturas y durante periodos de tiempo cortos; en general se recomiendan temperaturas de 4ºc durante 2 o 3 días y de -20ºc cuando la muestra deba conservarse por más tiempo (Messeguer *et al*. 1992).

La sangre recién extraída, debe dejarse reposar de 10 a 15 minutos a temperatura ambiente, antes de ser refrigerada. En este periodo de tiempo se puede realizar el extendido sanguíneo si es necesario, para así evitar la deformación o modificación de las células; una vez realizado se fija con metanol. En los Análisis Hematológicos, lo mejor es realizar las pruebas en un lapso aproximado de 5-6 horas.

2.1.1. Métodos de Recogida de Sangre

La obtención de una muestra en buenas condiciones dependerá de la asepsia, la sujeción del paciente, la técnica para la extracción de sangre; así como también la manipulación y remisión de la muestra. Por estas razones se deben seguir ciertas normas básicas, como son las siguientes:

a. Usar agujas, jeringas, recipientes; bien limpios y secos.
b. Utilizar los métodos de sujeción apropiados según la especie animal con la que se trabaje.
c. No producir estasis prolongado en la vena.
d. No absorber la sangre con mucha rapidez, dejando que la sangre se deslice suave y lentamente.
e. No sacudir bruscamente la sangre una vez extraída.
f. Mantenerla en refrigeración.

La cantidad de sangre que se puede extraer a un animal sin riesgo del mismo, varía en función de su tamaño o peso; así como también en dependencia a de la técnica que vaya a realizarse.

Medway *et al*. (1973), sugieren a titulo orientativo las siguientes cifras, para la cantidad de sangre que se puede extraer por especie:

- Bovinos: 3.5 – 5 ml.
- Equinos: 4 – 5 ml.
- Ovinos, Caprinos: 3 ml.
- Porcinos: 3 – 4 ml.
- Caninos de talla grande: 3 ml.
- Caninos de talla media y pequeña, Felinos: 1 – 2 ml.

2.1.1.1. Punción Cutánea

Se lleva a cabo cuando se necesita solo una pequeña cantidad de sangre; la cual se realiza de la siguiente manera:

1. La zona que tenga abundancia de pelo, se rasura con unas tijeras y se desinfecta la piel con alcohol al 70º; dejándolo evaporar antes de realizar la punción.
2. Pinchar rápidamente con una lanceta, aguja de disección histológica o aguja hipodérmica de bisel afilado, previamente esterilizada.
3. Despreciar la primera gota de sangre, y recoger las siguientes. Si la sangre no fluye espontáneamente, no se debe presionar ya que puede producir modificaciones en los elementos formes de la sangre.

El lugar de elección para la punción cutánea es la oreja en la mayoría de las especies animales (Bovinos, Ovinos, Caprinos, Equinos, Porcinos, Caninos, Felinos, Conejos); aunque también puede realizarse a nivel del belfo superior (Equinos), en el hocico o incluso en los pulpejos (Caninos) (Messeguer 1999).

2.1.1.2. Punción Venosa

Esta técnica es empleada cuando se necesita recoger un mayor volumen de sangre; aunque sea un procedimiento que requiere más material y resulta más complejo, debe tener en cuenta lo siguiente:

1. Agujas deben tener bisel corto y bien afilado, el calibre será el máximo posible en relación con el grosor de la vena.
2. El material empleado debe estar estéril, o utilizar material desechable.
3. Si el animal posee mucho pelo, lo mejor es recortarlo con el fin de apreciar mejor la vena a puncionar; desinfectándose siempre la zona de punción.
4. Realizar presión digital o por medio de un torniquete, por encima de donde se va a realizar la extracción. Una vez introducida la aguja en la vena, se elimina la presión, y dejar que la sangre fluya; ya sea por presión venosa positiva o aspirando con ayuda del embolo de la jeringa, evitando crear espuma o la hemolisis.
5. Terminada la extracción se retira la aguja, ejerciendo presión digital sobre el lugar de punción, para evitar la formación de hematomas.

McCurnin (1987) describe diferentes técnicas que pueden ser empleadas para la venopunción en las diferentes especies domesticas; sigue como a continuación se cita:

A. En Caninos

- Sitios de Venopunción: Vena Cefálica, Vena Yugular y en menos frecuente la Vena Safena.

a. Vena Cefálica: se localiza en la parte craneal del miembro anterior (por razones estéticas no es conveniente cortar el pelo sobre el sitio de punción, sin embargo en animales de pelo largo es necesario). Se desinfecta el área a puncionar con alcohol al 70%.

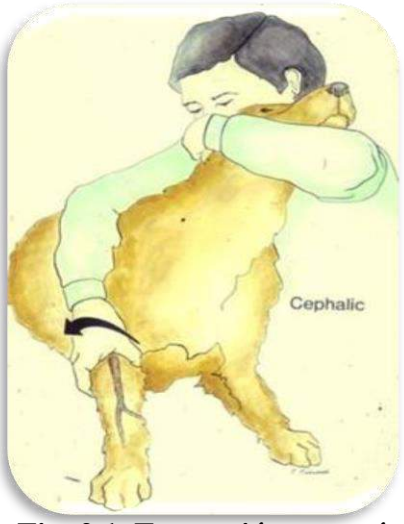


Fig. 2.1. Extracción a través de la V. Cefálica - Caninos

- Si se punciona la Vena Cefálica derecha, el asistente se colocara a la izquierda del animal y ubicar su brazo izquierdo bajo la barbilla del animal, para limitar el movimiento de la cabeza.
- Con la mano derecha el asistente toma el miembro anterior derecho, por la porción distal de la articulación del codo. Con el pulgar, ocluye la vena y la hace girar, para ubicarla en la superficie del miembro estirado.
  - Si no se cuenta con un asistente, se puede utilizar un torniquete colocado en la porción distal de la articulación del codo.
- La persona que extrae la muestra, toma el miembro anterior del animal y coloca a lo largo de la vena.
- La aguja se introduce en la vena en un ángulo de 20º, en un solo movimiento. Con un suave tirón del embolo permitiendo que la sangre fluya dentro de la jeringa.
- Una vez extraída la sangre necesaria, se procede a liberar el torniquete o presión digital. La aguja es retirada rápidamente y se aplica presión digital al lugar de la punción, en forma simultánea para evitar hemorragias o formación de hematomas.

b. Vena Yugular: Es utilizada cuando el animal es pequeño.

Fig. 2.2. Extracción a través de la V. Yugular - Caninos

- El asistente inmoviliza al animal en posición decúbito esternal, extendiéndole la cabeza y cuello; con una leve rotación de la cabeza permite una mejor observación de la vena.
- La persona que ejecuta la venopunción, coloca el pulgar en el surco yugular a la altura del encuentro, lo que producirá la hinchazón de la vena.
- La punción, se realiza insertando la aguja dentro de la vena yugular en dirección craneal.

❖ El calibre y longitud de la aguja hipodérmica varía en dependencia del tamaño del animal, pero a titulo orientativo se puede usar:

- ✓ Perros Pequeños: Longitud ½ pulgada; Calibre 25.
- ✓ Perros Medianos: Longitud ¾ pulgada; Calibre 22.
- ✓ Perros Grandes: Longitud 1 pulgada; Calibre 20 o 21.

B. En Felinos

Fig. 2.3. Extracción a través de la V. Cefálica - Felinos

- Sitios de Venopunción: Vena Yugular, Vena Femoral, Vena Safena o Vena Cefálica.

El procedimiento para venopunción en la Vena Cefálica y Vena Yugular es igual a la descrita en caninos.

❖ El calibre y longitud de la aguja hipodérmica varía en dependencia del tamaño del animal, pero a titulo orientativo se puede usar:

- ✓ Vena Yugular, Vena Safena, o Vena Cefálica: Longitud 1 pulgada; Calibre 25.
- ✓ Vena Femoral: Longitud ½ pulgada; Calibre 27.

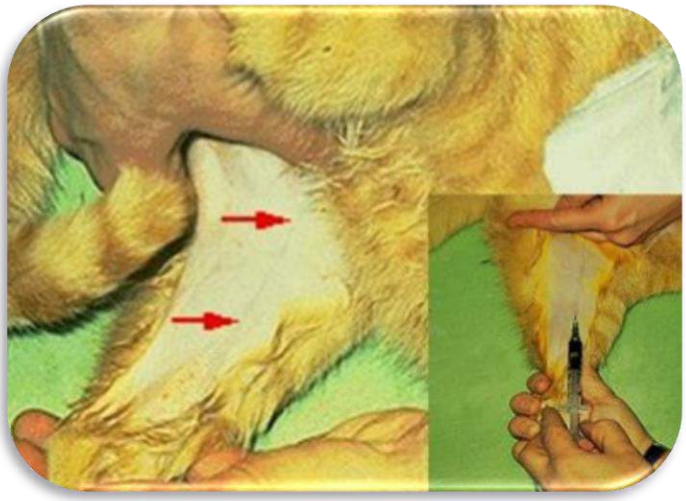


Fig. 2.4. Extracción a través de la V. Femoral - Felinos

Fig. 2.5. Extracción a través de la V. Yugular - Felinos

C. En Equinos

- Sitios de Venopunción: Vena Yugular.

Con la cabeza hacia arriba y a un lado, utilizando el opuesto para extraer la sangre. Luego de limpiar el sitio de venopunción con alcohol 70%.

- La vena se ocluye con presión digital en el surco yugular. Con la otra mano, se introduce una aguja adherida a la jeringa; con un movimiento firme en un ángulo de 45º a 90º.
- Una vez que la vena ha sido penetrada se coloca la aguja hacia arriba o hacia abajo hasta la base. Con la vena ocluida, se aspira la cantidad de sangre necesaria.
- Luego de extraer la sangre, se retira la aguja y se aplica una ligera presión digital sobre el sitio de punción.

Fig. 2.6. Extracción a través de la V. Yugular - Equinos

- Se debe puncionar la vena yugular derecha, para no perforar accidentalmente el esófago; ya que este corre próximo al surco yugular del lado izquierdo (McCurnin 1987).

❖ El calibre y longitud de la aguja hipodérmica varía en dependencia del tamaño del animal, pero a titulo orientativo se puede usar:

- ✓ Longitud 1 ½ pulgadas; Calibre 18.

D. En Bovinos

- ➢ Sitios de Venopunción: Vena Yugular o Vena Coccígea Ventral.

a. Vena Yugular: La técnica es igual a la descrita en Equinos; con la única diferencia de que puede usarse una aguja hipodérmica adherida a una jeringa, o ya sea solamente la aguja hipodérmica.

Fig. 2.7. Extracción a través de la V. Yugular - Bovinos

b. Vena Coccígea Ventral: otro sitio común de venopunción en bovinos.

- Con una mano se dobla la cola del animal, hacia arriba a la altura de la base; y el sitio de punción se limpia con alcohol a 70%.
- Con la mano libre se sostiene y se inserta la aguja, en un ángulo de 90º con respecto a la piel; entre los arcos hemáticos de las vértebras coccígeas 4ª a 7ª.

Fig. 2.8. Extracción a través de la V. Coccígea Ventral - Bovinos

❖ El calibre y longitud de la aguja hipodérmica varía en dependencia del tamaño del animal, pero a titulo orientativo se puede usar:

- ✓ Vena Yugular: Longitud 2 a 3 pulgadas; Calibre 14 o 16.
- ✓ Vena Coccígea Ventral: Longitud 1 a 1 ½ pulgadas; Calibre 18 a 20.

E. En Ovinos & Caprinos

a) Ovinos

- ➢ Sitios de Venopunción: Vena Yugular.

Es importante estirar el cuello hacia un lado para facilitar la visualización y punción de la vena. Puede realizarse por 2 métodos:

Método A:

- Se sienta al animal, sobre sus cuartos traseros; y la persona que practica la venopunción, coloca una rodilla en el suelo, y estira el cuello de la oveja, sobre el muslo de la otra pierna.
- La cabeza de la oveja se sostiene con el brazo utilizado para realizar la punción.
- La mano libre, se utiliza para ocluir la vena yugular, en u ángulo de 20º respecto a la piel; y se inserta la aguja en el surco yugular.

Método B:

- Con la oveja en pie, se hace retrocede hacia un rincón. La persona que recolecta la muestra estirara el cuello, sosteniendo la cabeza de la oveja hacia un lado con el mismo brazo que realiza la punción.
- La otra mano se utiliza para ocluir la vena; y se realiza la punción como ya ha sido descrita.

❖ El calibre y longitud de la aguja hipodérmica varía en dependencia del tamaño del animal, pero a titulo orientativo se puede usar:

✓ Longitud 1 a 1 ½ pulgadas; Calibre 18 a 20.

b) Caprinos

➢ Sitios de Venopunción: Vena Cefálica o Vena Yugular.

El procedimiento para venopunción yugular, es igual al que se describió para los bovinos; mientras que para la venopunción en la vena cefálica, es igual a la descrita en caninos.

❖ El calibre y longitud de la aguja hipodérmica varía en dependencia del tamaño del animal, pero a titulo orientativo se puede usar:

✓ Vena Yugular: Longitud 1 a 1 ½ pulgada; Calibre 18 a 20.
✓ Vena Cefálica: Longitud 1 pulgada; Calibre 20 o 21.

F. En Porcinos

➢ Sitios de Venopunción: Vena Cava Anterior o Vena de la Oreja.

a. Vena Cava Anterior: Debido a que tanto el nervio frénico como el conducto torácico están próximos a la vena yugular exterior del lado izquierdo, se prefiere utilizar la vena cava anterior ubicada a la derecha. (McCurnin; 1987)

Los lechones pueden ser inmovilizados en posición decúbito dorsal, con la cabeza totalmente extendida y los miembros anteriores totalmente estirados hacia atrás (Fig. 1.10.). Los animales adultos se inmovilizan por medio de un lazatrompas, con la cabeza colocada en línea recta respecto al cuerpo y ligeramente elevada.

- La punción se realiza en la fosa yugular derecha, en una depresión lateral a la proyección anterior del esternón.
- La aguja adherida a la jeringa, se inserta perpendicular al plano del cuello y hacia el hombro izquierdo. La punción se realiza craneal al primer par de costillas, evitando perforar la cavidad pleural.
- La aguja se debe insertar en toda su longitud, lo que hará que pase a través de la vena, por lo que se retira en forma gradual al mismo tiempo que se crea un leve vacío con la jeringa.

Fig. 2.9. Posición en Decúbito Dorsal

- La extracción de la aguja debe ser lenta, para dar tiempo a que la sangre recorra todo el largo de la aguja y llegue a la jeringa.
- Cuando la sangre llegue a la jeringa, se detiene la extracción de la aguja, hasta obtener la sangre necesaria.

Fig. 2.10. Extracción a través de la V. Cava Anterior - Porcinos

b. Vena de la Oreja: Esta vena solo se utiliza para extraer pequeñas muestras, ya que una presión negativa sostenida sobre la jeringa, provocara un colapso de la pared de la vena.

- Mientras el animal es sujetado con un lazatrompas, la vena se ocluye con un hule resistente o unas pinzas de mandíbula grandes forradas con hule, alrededor de la base de la oreja.
- Con una mano se sujeta la punta de la oreja, mientras que con la otra se sostiene una aguja adherida a una jeringa.
- La aguja se inserta dentro de la vena, al mismo tiempo que se ejerce un leve vacío en la jeringa, y se extrae la cantidad necesaria.

Fig. 2.11. Extracción a través de la V. de la Oreja - Porcinos

- El calibre y longitud de la aguja hipodérmica varía en dependencia del tamaño del animal, pero a titulo orientativo se puede usar:

  - Vena Cava Anterior:
    - Cerdos hasta 11.5 kg: Calibre 20; Longitud 1 pulgada.
    - Cerdos entre 11.25 a 22.5 kg: Calibre 18; Longitud 1 ½ pulgadas.
    - Cerdos entre 22.5 a 56.5 kg: Calibre 17 a 18; Longitud 2 pulgadas.
    - Cerdos hasta 117 kg: Calibre 17 a 18; Longitud 2 ½ pulgadas.
    - Cerdos de Mayor Peso: Longitud 3 a 5 pulgadas.

  - Vena de la Oreja:
    - Aguja Hipodérmica: Calibre 18 a 20; Longitud 1 a 1 ½ pulgadas.
    - Scalp (Mariposa o Mariposilla): Calibre 19 o 21.

2.1.2.3. Punción Cardiaca

Esta técnica es utilizada para obtener volúmenes de sangre suficiente de pequeñas especies como; conejo, cobayo, rata, etc.; sin que incurra en riesgo para el animal. Utilizando las medidas de asepsia conocidas y seguridad correspondientes a la especie con la que se trabaje; se procede a realizar la punción utilizando jeringas de 1 ml con agujas de calibre 27 x ½ pulgadas.

Para puncionar al animal, se tumba sobre el lado derecho; se palpa con los dedos el choque de la punta del corazón y se introduce la aguja a través del espacio intercostal correspondiente a la máxima intensidad del choque. La punción se realiza en 2 tiempos; la primera fase en que se perfora la piel, músculos y serosas hasta llegar al pericardio, momento en que se notaran las contracciones cardiacas transmitidas a través de la aguja; en ese instante, se empuja la aguja introduciéndola en la cavidad cardiaca (Messeguer *et al*. 1992).

2.1.2. Muestra para el Diagnostico de Hematozoarios

La sangre circulante tomada de una Vena Yugular o Cefálica no es satisfactoria, salvo en infecciones fuertes, porque hay una gran "dilución" de células infectadas. Las Cel. Hemáticas Infestadas son más pesadas y tienen tendencia a permanecer adherido a los pequeños vasos; por esto las muestras de sangre tomadas por Punción Capilar Periférica tiene más posibilidades de Diagnostico (Medway *et al*. 1973).

Fig. 2.12. Toma de Muestra Capilar, para el Diagnostico de Hematozoarios. Foto por E. Benavides

Las Células parasitadas se lisan más rápidamente, por esto una muestra de más de 3 horas de recolectada, a pesar de haber sido refrigerada puede dar falsos negativos. No se justifica enviar sangre para Diagnostico de Hematozoarios cuando esta durara más de 6 horas en llegar al laboratorio (Mora 2009).

Para mejorar la posibilidad de Diagnostico de Hematozoarios se debe realizar un Frotis Sanguíneo al momento de la toma de muestra, preferiblemente utilizando sangre por Punción Capilar. Se realiza un Frotis delgado y secado al aire, garantizando la permanencia de las Células Parasitadas; se preparan 2 frotis por muestra, se identifican y empacan en papel bond separados por palillos.

Las láminas con los Frotis no se incluyen dentro de la caja con las muestras que van refrigeradas, ya que la humedad los desprende. Se debe proteger entre 2 cartones y dentro de un sobre, con toda la información pertinente (Mora 2009).

Cuadro 2.1. Código de Color para Agujas Hipodérmicas y Catéter Endovenoso

Código de Color	Calibre - Aguja Hipodérmica	Código de Color	Calibre – Catéter EV
Verde claro	14 G	Naranja	14
Olivo	15 G	Gris	16
Blanco	16 G	Blanco	17
Rojo violeta	17 G	Verde	18
Rosa	18 G	Rosa/Lila	20
Marfil/Beige	19 G	Azul/Celeste	22
Amarillo	20 G	Rojo	24
Verde	21 G	Morado/Violeta	26
Negro	22 G		
Azul claro	23 G		
Violeta/Purpura medio	24 G		
Naranja	25 G		
Marrón/Café	26 G		
Gris medio	27 G		
Verde-Azul	28 G		
Rojo	29 G		
Amarillo claro	30 G		

Fuente: Agujas Hipodérmicas – Terumo Europe

2.1.3. Sustancias Anticoagulantes

Fig. 2.13. Tubos Colectores de Sangre

Incluso con el mejor anticoagulante puede producirse cambios que inducen a error si no se guardan las debidas precauciones. Las extensiones de sangre han de realizarse inmediatamente y en caso contrario, la muestra se conservara a 4ºC. Las muestras de sangre recogidas con anticoagulante y mantenida en nevera debe ser cuidadosamente homogenizadas por inversión repetida y lenta del tubo antes de su empleo; además que las muestras alcancen la temperatura ambiente antes de iniciar su análisis (Messeguer *et al.* 1992).

Cuadro 2.2. Principales Anticoagulantes y sus Características Principales

Anticoagulante	Concentración Optima	Preparación de los Tubos	Ventajas	Desventajas
Mezcla de Oxalatos Amónico y Potásico	2 mg/ml de sangre	0.5 ml en un tubo, colocarlo en una estufa hasta su total desecación. Esto es suficiente para 5 ml de sangre	No altera los Hematíes	Después de la 1ª hora, se produce cariorrexis y graves cambios leucocitarios Interfiere las determinaciones de potasio, amonio, urea y fosfatasa alcalina Es venenoso; por lo que no puede utilizarse para transfusiones
Mezcla de Oxalato Potásico y Fluoruro Sódico	1 mg/ml de sangre	--	Recomendado en análisis de Glucemia	No debe usarse cuando se valora la Glucosa o Urea por procedimientos enzimáticos Es venenoso; por lo que no puede utilizarse para transfusiones
Citrato Sódico	1 parte de anticoagulante por 9 partes de sangre		Idóneo para los estudios de coagulación Puede usarse para transfusión	Interfiere con varias pruebas bioquímicas Previene la coagulación por pocas horas, arruga las células
Heparina	0.1–0.2 mg/ml de sangre	0.1 ml de sol. al 0.75% en un tubo y dejar evaporar hasta su desecación; o 1 gota de heparina comercial. Esto es suficiente para 5 ml de sangre	Preserva la sangre por 10 – 12 horas Se aconseja para el estudio del valor de hematocrito Se emplea cuando se necesita plasma para determinaciones de Calcio, Sodio y Urea	Al emplearse en dosis demasiado altas, disminuye la apetencia tintorial de los Leucocitos La coagulación no se evita, sino que solo se retrasa 10-12 horas
Ácido Etilen Diamino Tetracético (EDTA)	1–2 mg/ml de sangre	Colocar en un tubo, 0.5 ml de sol. al 1% y dejar evaporar; o bien 1 gota de sol. al 10%. Esto es suficiente para 5 ml de sangre	Preserva bien la sangre en refrigeración por 24 horas, o a temp. ambiente por 6 horas	Concentraciones mayores de 2 mg/ml, provoca una salida de agua de los hematíes, y reduce el valor de hematocrito, produciendo también vacuolizacion de los neutrófilos

			Conserva bien las células y sus características, usado en todas los exámenes hematológicos Evita la formación de agregados plaquetarios, y es el mejor para el recuento de trombocitos	

Fuente: Messeguer *et al*. (1992); Jardon (2003)

Cuadro 2.3. Código de Color para Tubos Colectores de Sangre

Código de Color	Aditivo	Mezclado	Área de Uso
Dorado / Rojo	Activador de coagulación y gel separador	5	Bioquímica (suero). También como tubo de rutina, diagnóstico de enfermedades infecciosas en suero. Formación del coagulo en 30 minutos.
Rojo/Teja	Activador de coagulación con silicón	0/5	Bioquímica (suero). También como tubo de rutina, diagnóstico de enfermedades infecciosas en suero. Formación del coagulo en 60 minutos.
Azul real	• Activador de coagulación (plástico) • $EDTAK_2$ (plástico)	8	Pruebas de elementos traza, toxicología y determinaciones en química nutricional.
Verde	Heparina de sodio / litio	8	Bioquímica (plasma)
Gris	Oxalato de potasio y Floruro de sodio	8	Glucosa
Lila	• $EDTAK_3$ líquido (vidrio) • $EDTAK_2$ (adherido por aspersión)	8	Hematología. También usado en inmunohematologia.
Azul claro	Citrato de sodio amortiguado	3-4	Determinaciones de coagulación.

Fuente: Guía de Tubos BD Vacutainer para Recolección Venosa (2012)

2.2. MUESTRAS DE ORINA

El análisis de orina se hace de una sola muestra, por tanto debe recogerse asépticamente en recipientes estériles. La mejor muestra es la primera de la mañana, ya que contiene la concentración máxima de todos los constituyentes y es la más estandarizada. Los exámenes validos son los realizados en muestras de no más de 2 horas de recogida; si se tarda más, la muestra debe ser refrigerada nunca congelada, entre 4ºc y 7ºc, y retrasarse el Urianalisis hasta 12 horas; o se añadirá algún conservante (Messeguer *et al*. 1992).

❖ **Conservantes**

- Formol 40%: 1 gota por cada 2.5 ml. Aceptable para el análisis del sedimento; interfiere en las pruebas de azucares reductores.
- Alcohol Metílico o Etílico al 95%: 50% de orina + 50% de alcohol. Estos pueden preservar la orina durante 2 días, salvo para las determinaciones de cetonas.
- Merthiolate (Ácido Etil-Mercurio Tio Salicílico): 10 mg / litro de orina.

Según Messeguer *et al.* (1992) cuanto más tiempo tarde en realizarse el examen, menos fiable será; ya que pueden producirse:

- Lisis de Eritrocitos.
- Degeneración de Leucocitos y Cilindros.
- Proliferación bacteriana.
- Alcalinización del pH.
- Evaporación de Cetonas.
- Metabolización de la Glucosa.
- Oxidación de los Pigmentos Biliares.

- Orinas con pH alcalino, bacterias abundantes y pocos leucocitos indican contaminación de la muestra por mal almacenamiento.

2.2.1. Métodos de Recogida de Orina

2.2.1.1. Micción Espontanea

Se realiza durante el curso de la micción del animal y se recoge a mitad de esta, desechando la primera y última parte de la micción. Este procedimiento carece de riesgos y lo puede realizar el propietario; sin embargo el paciente no siempre orina cuando quiere la persona que va a recoger la muestra.

Fig. 2.14. Micción Espontanea

Las desventajas consisten en que la muestra puede contaminarse de con células, bacterias y detritus localizados en la uretra distal, en el tracto genital y en la piel y pelo (Radostits *et al*. 2002).

2.2.1.2. Cistocentesis

Consiste en la inserción de una aguja en la vejiga urinaria, a través de la pared abdominal para obtener una muestra de orina no contaminada; es una técnica sencilla cuando se puede palpar la vejiga. Se prepara

el área rasurando el pelo y realizando un lavado con desinfección del área a puncionar. Posteriormente se realiza empleando una aguja de 22 G x 1" o 1 ½", usando jeringas de 10 a 12 ml.

El procedimiento se puede realizar en decúbito lateral o dorsal; cualquiera sea la posición del animal, es recomendable insertar la aguja a través de la pared ventral o ventrolateral con el fin de minimizar el riesgo de traumatizar los uréteres y los grandes vasos abdominales. La aguja se dirige en dirección cráneo-caudal, en un ángulo de 45º; de tal forma que se cree un tracto oblicuo que proporcione un sellado eficaz tras extraer la aguja (Radostits *et al*. 2002).

A. Cistocentesis Lateral

Se coloca al animal en decúbito lateral o en estación, y se palpa la vejiga. A continuación se inmoviliza la vejiga dorsal y caudalmente, con la mano libre cuando está en decúbito lateral, Si se encuentra en estación, se fija presionándola lateral y caudalmente para fijarla.

Fig. 2.15. Cistocentesis Lateral, en Decúbito Lateral

Fig. 2.16. Cistocentesis Lateral, en Estación. Tomado de Radostits *et al*. (2002)

Se inserta la aguja a través de la piel ventrolateral del abdomen, a través de la cavidad abdominal y de la pared vesical, angulando en sentido caudomedial y aspirando la orina con la jeringa.

Si se extrae sangre o no se obtiene orina, hay que retirar la aguja completamente; no es recomendable intentar dirigir de nuevo la aguja dentro de la cavidad abdominal, sino que hay que reemplazarla y hacer un segundo intento. Si el resultado no es satisfactorio, no debe hacerse más intentos, sino hasta transcurridas algunas horas (Radostits *et al*. 2002).

Fig. 2.17. Inserción de la Aguja a través de la Piel, Ventrolateral del Abdomen

Fig. 2.18. Extracción de Orina a través de Cistocentesis

B. Cistocentesis Ventral

Se coloca al animal en decúbito dorsal; una vez inmovilizado el paciente se procede a palpar la vejiga para determinar su tamaño y localización. La vejiga se estabiliza y coloca cerca de la pared abdominal ventral, comprimiendo el abdomen craneal con la mano libre.

En perras, gatas y gatos; la aguja se inserta en el abdomen, manteniéndola sobre la línea media. En perros, la aguja se inserta lateral al prepucio; con el fin de evitar el hueso peneano. A continuación la orina se procede a aspirar como ya se ha descrito.

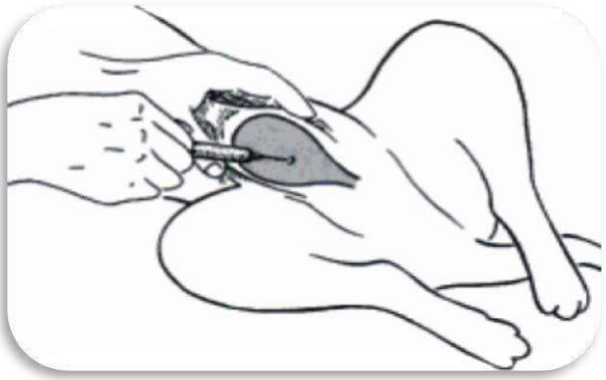


Fig. 2.19. Cistocentesis Ventral. Tomado de Radostits *et al*. (2002)

- ❖ Complicaciones y Contraindicaciones de la Cistocentesis (Radostits *et al*. 2002).
  - ➢ Complicaciones: Hematuria y Laceración de la vejiga y asas intestinales.
  - ➢ Contraindicaciones: No poder palpar ni inmovilizar la vejiga porque contenga muy poca orina; que el animal se resista a ser inmovilizado y a que se palpe el abdomen.

2.2.1.3. Sondaje o Cateterización

Se recurre para obtener una muestra de orina cando la Cistocentesis no ha tenido éxito o está contraindicada, para liberar una obstrucción uretral o dejar una sonda vesical permanente. Las posibles complicaciones del sondaje uretral son: el traumatismo y la infección.

Al realizar este procedimiento hay que tener especial atención a la asepsia y aplicar una técnica suave; para ello se rasura el pelo alrededor del prepucio o vulva, se limpia con gasas impregnadas en yodo povidona o clorhexidina el área circundante. Se utilizan guantes estériles para mantener la asepsia y manipular la sonda. Se usan sondas estériles (conservadas en soluciones antisépticas), teniendo cuidado porque las bacterias pueden invadir el tracto urinario transportados por la sonda o catéter.

Con el fin de minimizar el traumatismo y malestar del paciente, poner en la sonda y en el especulo, anestésico local especialmente diseñado para procesos urológicos. Se estima la longitud de sonda necesaria para alcanzar el cuello de la vejiga desde el meato uretral externo y se marca con un rotulador o un trozo de esparadrapo, evitando así la excesiva introducción de sonda en la vejiga.

Se recoge la orina sobre recipientes estériles, desechando los primeros mililitros de orina, ya que pueden estar contaminados con bacterias, detritus y células procedentes de la uretra distal y tracto genital; a continuación se deposita en el recipiente, tapando herméticamente y etiquetándolo.

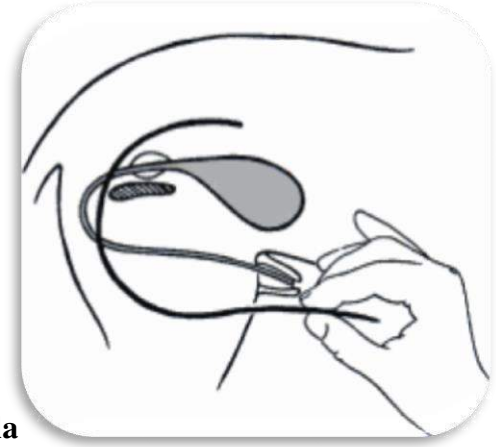


Fig. 2.20. Estimación de la Longitud de la Sonda Urinaria. Tomado de Radostits *et al*. (2002)

A. En Caninos

a. Machos: Sondas de Nylon flexible, el diámetro varía según la talla del animal (2, 2.6 y 3.3 mm).

Fig. 2.21. Inserción de la Sonda Urinaria a través del Pene – Caninos. Tomado de Radostits *et al*. (2002)

Fig. 2.22. Extracción de Orina a través de Sondaje Urinario – Caninos

b. Hembras: Sondas metálicas rectas o con ligera curvatura en la punta, 2 mm de diámetro x 30 cm de longitud. Se usa un especulo vaginal y un foco luminoso.

Fig. 2.23. Inserción de la Sonda Urinaria a través de la Vulva – Caninos. Tomado de Radostits *et al*. (2002)

- **Precauciones:** No confundir el orifico uretral con la fosa del clítoris; nunca forzar, ya que puede producir heridas y hemorragias.

B. En Felinos

a. Machos: Sondas de 1 o 1.3 mm de diámetro.

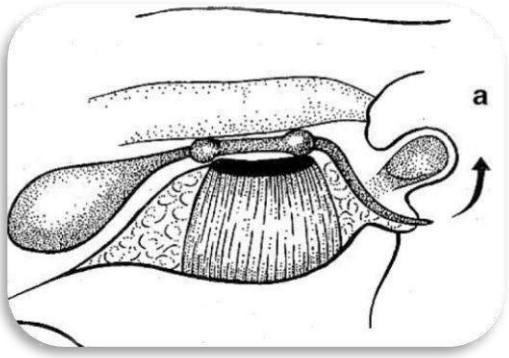
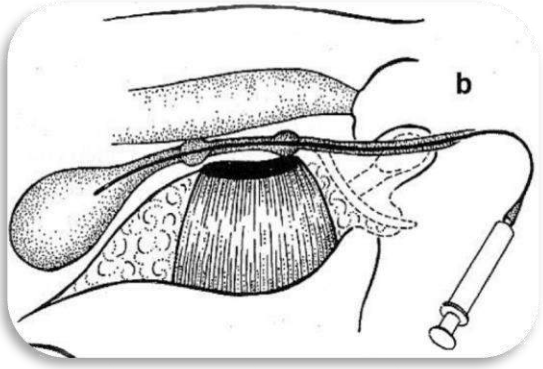


Fig. 2.24. Colocación del Pene, para la Inserción de la Sonda Urinaria – Felinos. Tomado de Radostits *et al*. (2002)

Fig. 2.25. Inserción de la Sonda Urinaria - Felinos. Tomado de Radostits *et al*. (2002)



b. Hembras: Requiere anestesia general y anestésicos locales en Sprays sobre la vulva.

C. En Equinos

a. Machos: Sondas plásticas de 8 a 10 mm de diámetro x 1 m de longitud. Se exterioriza el pene del saco prepucial, con ayuda de drogas ataráxicas se provocan relajación de los músculos retractores del pene. Se introduce la sonda por la uretra hasta el borde del isquion; después se actúa vía rectal, controlando la entrada de la sonda a la vejiga.

b. Hembras: Catéter metálico de 40 cm de longitud y con ayuda de un especulo.

D. En Bovinos

a. Machos: Sondas de 2 mm de diámetro por 1 m de longitud, de polietileno con extremos redondeados. Se emplearan drogas ataráxicas que bloqueen el nervio pudendo y que relajen los músculos retractores del pene.

b. Hembras: No confundir el orificio uretral con el Divertículo Suburetral; para ello se introduce una mano en la vagina y se localiza el divertículo introduciendo un dedo en él, luego se localiza el orificio uretral y se introduce el catéter.

E. En Ovinos & Caprinos

a. Machos: No se cateteriza; por la dificultad de la extracción del pene.

b. Hembras: No se cateteriza; la presencia del Divertículo Suburetral hace virtualmente imposible dirigir el catéter hacia el orificio uretral.

F. En Porcinos

a. Machos: No se cateteriza; por la dificultad de la extracción del pene.

b. Hembras: Introducimos el catéter con ayuda de los dedos índice y medio; localizamos la *fosa praeputialis* con el índice y con el dedo medio el orificio uretral.

2.2.1.4. Recogida de Orina de 24 horas

Messeguer *et al.* (1992) describe que para la recogida de orina de 24 horas, se emplean jaulas metabólicas (jaulas metálicas, con rejillas o malla de alambre como suelo), que permiten el paso de la orina, pero no el de las heces. Estas jaulas son usadas para fines como:

- ✓ Evaluar el volumen de orina de un animal durante 24 horas.
- ✓ Para determinar la eliminación de algún metabolito.
- ✓ Para verificar el estado de la función renal en la eliminación de algún fármaco.

2.3. MUESTRAS DE PIEL

2.3.1. Raspado Cutáneo

El éxito del examen al microscopio dependerá del cuidado que se tenga en la selección de los pelos y raspaduras de piel. Las lesiones de desarrollo reciente poseen más probabilidades que las lesiones antiguas. La periferia de la lesión es una fuente más rica que el centro de la misma (Coffin 1952).

Para la realización del raspaje y colectar la muestra; existen 3 niveles cuya profundidad dependerá del diagnóstico presuntivo:

- Superficial: si se sospecha de Dermatofitos o Ácaros viviendo en la superficie como *Cheyletiella sp*.
- Ligeramente Profundo: si se sospechan de Ácaros que excavan en la epidermis (*Sarcoptes* y *Psoroptes*).
- Profundo: si se sospecha de Ácaros Foliculares como el *Demódex*. Los raspados cutáneos profundos son marcados por sangrado capilar.

Fig. 2.26. Raspado Cutáneo. Tomado de Colombini (2005)

Según Locke *et al*. (1999) existe gran debate entre dermatólogos respecto a qué medio de montaje es preferible para el examen de raspados de piel; la elección es entre Aceite Mineral (Parafina Liquida) e Hidróxido de Potasio (KOH):

- Aceite Mineral (Parafina Liquida): permite un examen inmediato de los portaobjetos con la muestra y la identificación de ácaros vivos; la desventaja es que no aclara el detritus.
- Hidróxido de Potasio (KOH): con KOH al 10% se consigue buena separación de queratinocitos y limpieza del material, pero es caustico y mata los ácaros. Concentraciones más bajas, como al 6% por ejemplo, no son letales para los ácaros. Su desventaja también es que requiere de por lo menos media hora para que ejerza su acción, o puede acelerarse usando calor.

2.3.1.1. Técnica

El borde de la hoja es sumergida en aceite mineral o solución clarificante (Hidróxido de Potasio 10%); la cual es sostenida entre el pulgar y el segundo dedo, de modo que el índice quede libre para que actué como guarda, previniendo daños a la piel o estructuras adyacentes.

Ejercer presión sobre la piel, raspando en la periferia de la lesión y a lo largo de la piel manteniendo la hoja perpendicular a la superficie de la piel. Raspar en dirección del crecimiento del pelo, facilita la colección de la muestra. Un método que permite mayor probabilidades de encontrar algún espécimen en las muestra, es el raspaje de múltiples zonas afectadas. El material recogido puede depositarse directamente sobre un portaobjeto o en un tubo en caso de que se hayan recolectado grandes cantidades (Coffin 1952).

2.4. MUESTRAS DE MATERIAL FECAL

2.4.1. Extracción De La Muestra

La muestra debe ser fresca y estar libre de piedras, tierra o cualquier otro contaminante. La extracción se debe tomar directamente del recto manteniendo la asepsia. La extracción de materia fecal varía en dependencia de la especie animal, pero de manera general se extrae directamente del recto. En caso de no poder colectar la muestra de forma directa, se puede tomar del suelo, asegurándonos que pertenezca al paciente en cuestión, sean frescas y estén libres de contaminantes hasta donde sea posibles (Vignau *et al.* 2005).

Fig. 2.27. Extracción de Muestra Fecal. Tomado de Sixtos/Virbac (2011?)

En especies mayores con ayuda de guantes para extraer directamente la muestra. En especies menores a través del termómetro rectal, cucharilla rectal o hisopos largos; si bien la cantidad de heces que se obtiene con ellas es pequeña, es apenas suficiente para un examen directo.

La forma más adecuada para tomar la muestra en especies menores; es utilizando un escobillón. Se introduce el hisopo en el recto, y se rota; luego se retira e introduce en un tubo de ensayo.

✓ Si se utiliza un escobillón de algodón común, se debe mantener la humedad del escobillón en el tubo, con 1 o 2 ml de sol. salina fisiológica estéril.

Fig. 2.28. Cucharilla Rectal.
Tomado de Sixtos/Virbac (2011?)

La cantidad de materia fecal que se recomienda colectar es de 2-5 g en pequeños animales, mientras que en grandes animales no debe ser inferior a 10 g; sin embargo la cantidad dependerá del tipo de prueba(s) a realizar (Zarate 2007).

La cantidad de animales a muestrear dependerá de la población total; se deberá escoger de forma al azar entre animales sanos, enfermos y sospechosos.

2.4.2. Conservación y Consideraciones De La Muestra

Los conservadores pueden ser físicos o químicos. Los medios físicos de conservación, son las temperaturas bajas. Ejemplo:

- 4ºC: muchos estadios parasitarios pueden ser preservados al menos por dos meses con un desarrollo mínimo.
- 10ºC: es la temperatura del refrigerador, las muestras así conservadas podrán examinarse 24 y hasta 48 horas después de evacuadas, en el caso de heces diarreicas éstas deberán examinarse en un lapso no mayor de una hora.

Conviene procesar el material fresco sin demoras, aunque puede mantenerse en refrigeración un lapso variable que dependerá de los parásitos a buscar. Algunas formas de protozoos mueren o se alteran rápidamente a temperatura ambiente y los huevos de algunos helmintos pueden eclosionar en horas si no se refrigeran (Vignau *et al*. 2005).

Los medios químicos permiten la conservación de las muestras por más tiempo, sin correr el riesgo de que las formas parásitas se deformen o destruyan. Las muestras se pueden conservar indefinidamente en formalina al 10% (1 parte de heces 9 partes de formalina). La solución al 5% se recomienda para muestras, en las que se sospecha que contengan quistes de protozoarios (Zarate 2007).

2.5. REMISIÓN DE MUESTRAS

La calidad y utilidad de los Análisis de Laboratorio depende en gran medida, de la forma como se tomen y manejen las muestras antes de llegar al Laboratorio. Los esfuerzos que se hacen para tomar y transportar muestras de sitios muy lejanos, con frecuencia se pierden, ya sea porque la muestra no es la adecuada para el examen que se solicita, o porque la muestra está deteriorada o simplemente porque la identificación que se le dio, se ha perdido (Mora 2009).

2.5.1. Identificación de la Muestra

Una vez recolectada la muestra, se empacara y enviara al laboratorio, cada muestra debe estar debidamente identificada, tanto en el envase de la Muestra como en la Hoja de Remisión.

La Hoja de Remisión debe contener los siguientes datos:

- **Datos del Propietario:** Nombre, Teléfono/Celular, Dirección.
- **Datos del Médico Veterinario Remitente:** Nombre, Teléfono/Celular.
- **Datos del Paciente:** Identificación, Especie, Raza, Sexo, Edad.
- **Datos de la Muestra:** Fecha, Hora, Método de Recogida, Conservante utilizado (si se usó).
- **Historia Clínica**
- **Diagnostico Presuntivo**
- **Estudio o Examen Solicitado**
- **Firma de:** Propietario y/o Médico Veterinario Remitente.

Toda la información recolectada se resguardara en bolsas selladas individualmente y rotuladas con marcador permanente en la cara externa de la bolsa. Las muestras colectadas en bolsas pueden rotularse directamente con marcadores.

Cuadro 2.4. Cantidad de Especímenes a Muestrear Según la Población

Población Total de Animales	Cantidad de Animales Muestrear
1-10	Todas
11-25	Al menos 10
26-100	Al menos 20
101-200	Al menos 30
200 a mas	Al menos el 15%
500 a mas	Al menos el 10%

Fuente: Zarate (2007)

2.5.2. Transporte de la Muestra

Como norma general lo ideal es que las muestras lleguen al laboratorio lo antes posible.

2.5.2.1. Transporte de Muestras Refrigeradas

Fig. 2.29. Envio de Muestras

Coffin (1952) recomienda que al empacar las muestras que deben ser enviadas refrigeradas, debe tenerse en cuenta lo siguiente:

- Estar seguro que las muestras estén identificadas con marcador resistente al agua.
- Utilizar caja de poroplast o termo, proporcional al tamaño o número de muestras a enviar.
- Evitar que los envases entren en contacto directo con el hielo. Cuando se use bloques de hielo mezclarlos con aserrín o cascarilla; o coloque las muestras dentro de una bolsa plástica.
- Cuando se utilice bolsas de gel refrigerante, se debe envolver las muestras en papel periódico y colocarlos en bolsas plásticas, y así enviarlos en el termo.

2.5.2.2. Transporte de Muestras No Refrigeradas

Cuando la muestra puede llegar al laboratorio en menos de 4 horas o que la muestra no requiera refrigeración, las muestras se pueden transportar a temperatura ambiente, en un lugar fresco, protegidos de los rayos directos de la luz y el sol, evitando las vibraciones (Messeguer *et al.* 1992).

2.5.3. Envió de la Muestra

Para el manejo de las muestras se utilizan diversos tipos de recipientes; ya sean bolsas de polietileno, envases plásticos o de vidrio con tapas herméticas; el material no debe ser nunca contaminado con tierra, agua u orina.

Su envió puede ser por aire, a través del agua o por tierra; utilizando variedad de transportes, dependiendo de la distancia del lugar donde se tomó la muestra hasta el lugar del laboratorio.

Fig. 2.30. Diferentes Empaques para Envio de Muestras

Según Coffin (1952) las muestras deben ser bien empacadas, bajo los siguientes requisitos:

- Colocar en recipientes dobles (2 cajas o una caja y bolsas de plástico), ya que mejora el aislamiento y aumenta la resistencia del recipiente.
- Cada muestra debe ser enviada en recipientes individuales, entre cada muestra debe haber un material que amortigüe los golpes y que absorba la humedad (aserrín, papel o viruta).
- La caja externa debe ser cerrada de tal forma que todas las esquinas y tapas queden selladas con cinta adhesiva, aumentando así la resistencia del recipiente.
- Los datos y/u Hojas de Remisión, deben estar en el exterior de la caja, protegidos.
- Colocar en la envoltura del empaque que contiene las muestras, con claridad y legible: **"MATERIAL DE FACIL COMPOSICION PARA ANALISIS", "MANEJESE CON CUIDADO", "FRAGIL".**

CAPITULO III.

HEMATOLOGIA EN MAMIFEROS

3.1. GENERALIDADES

La sangre hace de 6-8% del peso corporal, la cual está compuesta de células (eritrocitos, leucocitos, plaquetas) que circulan en un líquido denominado plasma. Los eritrocitos o glóbulos rojos son los más numerosos, habiendo varios millones/mm3 de sangre; dependiendo de la especie, los eritrocitos pueden representar de un cuarto hasta la mitad del volumen sanguíneo total. Las plaquetas son el segundo tipo celular más numeroso con valores desde 100,000/mm^3 en caballos a varios cientos de miles por mm^3 en otras especies. El número total de leucocitos o glóbulos blancos es muy inferior a los de los eritrocitos o plaquetas, variando de 5,000/mm^3 a aproximadamente 20,000/mm^3; la proporción de tipos de leucocitos puede variar dependiendo de la especie, siendo los neutrófilos el tipo de leucocito más numeroso en los carnívoros y los linfocitos el más numeroso en los rumiantes (Meyer y Harvey 2007).

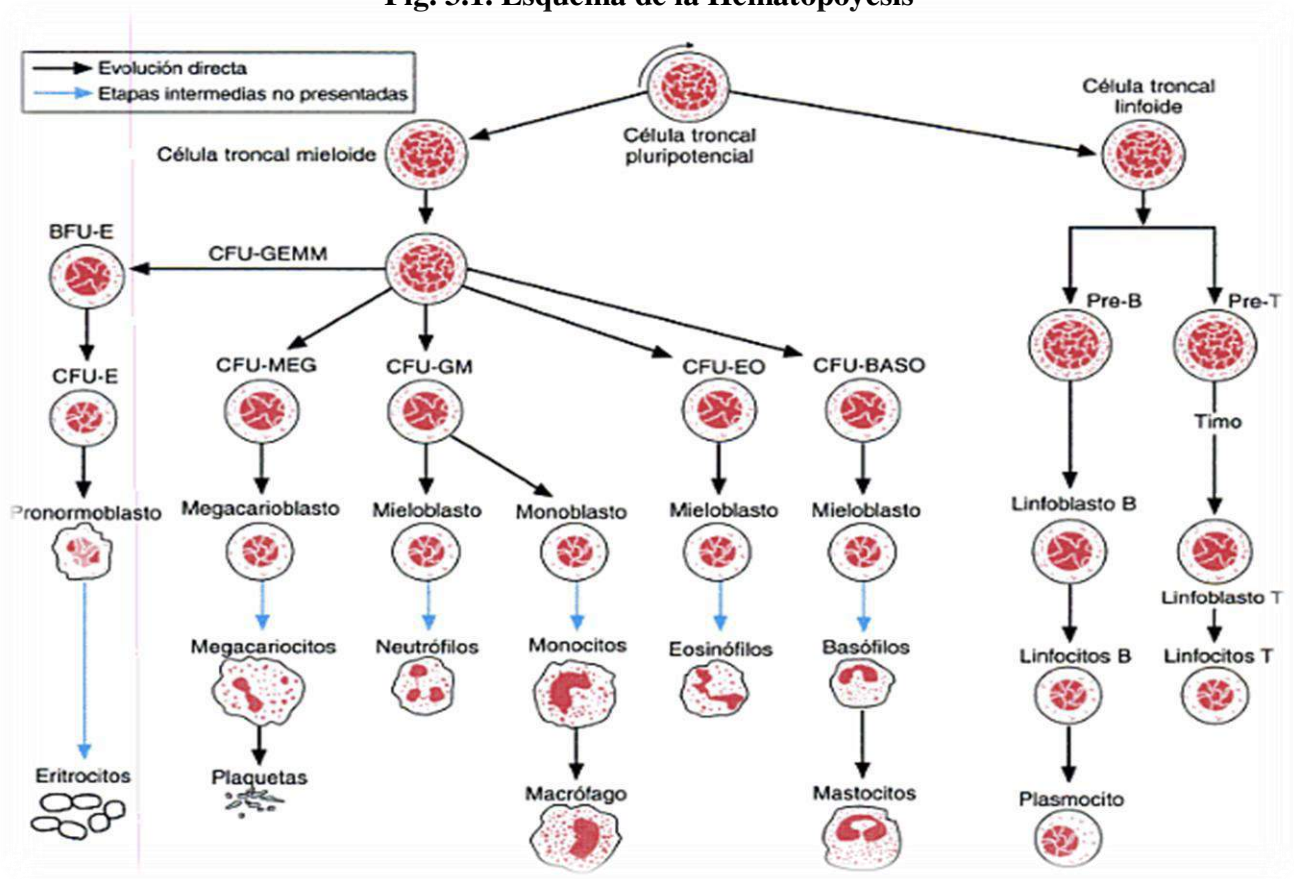
El plasma consiste principalmente en agua que contiene aproximadamente 6-88 g/dl de proteínas plasmáticas y 1,5 g/dl de sales inorgánicas, lípidos, carbohidratos, hormonas y vitaminas. El plasma se obtiene tomando la sangre con anticoagulante, seguido de una centrifugación; si se toma la muestra sin anticoagulante, el líquido que se obtiene tras la centrifugación se denomina suero (Meyer y Harvey 2007).

Cuadro 3.1. Composición de la Sangre

<table>
<tr><td rowspan="8">Componentes Celulares o Morfológicos</td><td colspan="2">Eritrocitos</td></tr>
<tr><td rowspan="5">Leucocitos</td><td>Neutrófilos</td></tr>
<tr><td>Eosinofilos</td></tr>
<tr><td>Basófilos</td></tr>
<tr><td>Monocitos</td></tr>
<tr><td>Linfocitos</td></tr>
<tr><td colspan="2">Trombocitos</td></tr>
<tr><td colspan="2">Células varias Infrecuentes en la sangre, como:
• Células Retículo-endoteliales
• Megacariocitos
• Núcleos expulsados de los eritrocitos
• Partículas del citoplasma de los eritrocitos
• Leucocitos degenerantes</td></tr>
<tr><td rowspan="3">Contenido del Plasma:
• Agua 91-92%
• Solidos 8-9%</td><td rowspan="2">Componentes Orgánicos de los sólidos</td><td>Proteínas (7%): se incluyen los anticuerpos y factores de coagulación</td></tr>
<tr><td>Substancias nitrogenadas, grasas neutras, fosfolípidos, colesterol, glucosa, enzimas, hormonas</td></tr>
<tr><td>Componentes Inorgánicos de los sólidos (0.9%)</td><td>Na, Ca, K, Mg, P, I, Fe, Cu, HCO_3</td></tr>
</table>

Fuente: Medway *et al*. (1973)

Fig. 3.1. Esquema de la Hematopoyesis



La sangre circulante está en contacto directo con todas las células del organismo y se ocupa de mantener la constancia del medio interno corporal a través de las siguientes funciones: Transporte de substratos, metabolitos, hormonas y otros productos; Defensiva e inmunológica, Hemostasia, Mantenimiento de las presiones osmóticas y coloidosmoticas, y nivel de hidrogeniones; y la Homeostasis calórica en los animales homeotermos.

Messeguer *et al*. (1992) describe que el estudio de la sangre no solo reviste de importancia para el diagnóstico de los trastornos de la misma; sino que en la mayoría de las enfermedades generales y orgánicas existen alteraciones que pueden resultar de interés diagnóstico y pronóstico.

En Hematología el principal análisis o examen que se realiza, es la Biometría Hemática Completa o el Hemograma; siendo este la determinación cuantitativa y cualitativa de los diferentes componentes de la sangre, como son: los Eritrocitos, Leucocitos y Plaquetas, además de otros componentes como el Plasma y las Proteínas Plasmáticas.

Las diferentes técnicas que se realizan en el examen de la Biometría Hemática Completa, son las siguientes:

- Serie Roja: Determinación de Hematocrito, Determinación de Hemoglobina, Recuento Total de Eritrocitos y los Índices Eritrocitarios.
- Serie Blanca: Recuento Total de Leucocitos y Leucograma
- Serie Plaquetar: Recuento Total de Plaquetas
- Determinación de Proteínas Plasmáticas

En el Hemograma, también se realizan otras determinaciones o evaluaciones, como son: la Evaluación Morfológica de las diferentes células sanguíneas (eritrocitos, leucocitos, plaquetas) y la valoración del cambio de color en la columna de plasma. Así también puede realizarse de forma complementaria el Diagnostico de Hematozoarios durante la evaluación del frotis sanguíneo.

3.2. FROTIS SANGUINEO

El Frotis Sanguíneo permite el estudio cualitativo de los diferentes componentes sanguíneos, ya sea por cambios morfológicos (eritrocitos, leucocitos y/o plaquetas), inclusiones intra o extracelular de parásitos o bacterias sanguíneas; así como también la estimación de recuentos indirecto de las plaquetas, y la valoración de la formula diferencial de leucocitos.

La sangre debe ser fresca, recién obtenida y en lo posible evitarse realizar frotis de sangre con anticoagulante; pues la más fina morfología de las células resalta en sangre sin anticoagulante, mientras que la mayoría de anticoagulantes tienden a distorsionar las células. En caso que no pueda evitarse usar sangre con anticoagulante, debe tenerse en consideración las características de los diferentes anticoagulantes.

Medway *et al*. (1973) citan algunas situaciones que pueden darse en la tinción de las células sanguíneas, según el anticoagulante:

- Sangre con EDTA: dará una película de sangre bastante buena, si el frotis se preparan en el término de 1 hora.
- Sangre con Heparina: produce un halo purpura en torno de todas las células y perdida de una clara tinción de las estructuras citoplasmáticas.
- Sangre con Citrato utilizado solo con fines especiales (estudios de coagulación o hemostasia), pero nunca como anticoagulante rutinario. Toda solución que diluye la sangre no sirve para conteo de corpúsculos sanguíneos.
- Sangre con Oxalato: altera la reacción del citoplasma a los colorantes, genera Basofilia y produce artefactos en el núcleo, que en las células mononucleares aparece como hendeduras.

3.2.1. Preparación del Frotis Sanguíneo

Coffin (1952), Benjamin (1962) y Medway, *et al.* (1973) citan 2 diferentes métodos para la realización del frotis sanguíneo, los cuales no han sufrido modificaciones hasta la actualidad; pero hay características de cada método que ha provocado, una predilección del Método del Portaobjetos sobre el Método de Cubreobjetos.

Los portaobjetos y cubreobjetos que se utilicen, deben estar limpios y exentos de grasa, sin rayas ni otras señales. Conservarse sumergidos en alcohol 95%, secando con papel o lienzo exento de hilachas antes de su uso; los portaobjetos y cubreobjetos deben manipularse por los bordes, para que no se manchen.

- Método del Portaobjetos: la preparación es más fácil de hacer, y es una mejor opción para su realización en campo, pero si no se realiza apropiadamente no da resultados satisfactorios. Portaobjetos de 1x3", de bordes biselados, esmerilados.

- Método del Cubreobjetos: permite una mejor distribución de las células en frotis; sin embargo al ser tan pequeñas y frágiles, son difíciles de manipular y limpiar. Cubreobjetos de 22x22 mm.

3.2.1.1. Método del Portaobjetos

1. Una vez homogenizada la muestra, se toma sangre con un capilar o un aplicador.
2. Se deposita una gota pequeña sobre un extremo del portaobjetos para frotis, el cual debe descansar en una superficie plana.
3. Se apoya el extremo del portaobjeto extensor sobre la superficie del portaobjetos para frotis, y por delante de la gota de sangre.
4. Se hace retroceder el portaobjetos extensor hacia la gota de sangre, sin separarlo de la superficie del portaobjetos para frotis.
5. Una vez el portaobjetos extensor haya hecho contacto con la sangre, se inclinara, de modo que ambos formen un ángulo de 30-45 grados.
6. Cuando la sangre haya corrido por capilaridad, se procede a la extensión.
7. Con un movimiento rápido, continuo y uniforme, se extiende el portaobjetos extensor hacia delante, cubriendo 2/3 del portaobjetos para frotis.
8. Séquese rápidamente moviéndolo en el aire; pero nunca aplicar calor ni soplar.
   - ✓ Lentitud del secado producirá cambios morfológicos en los eritrocitos (acantocitos).

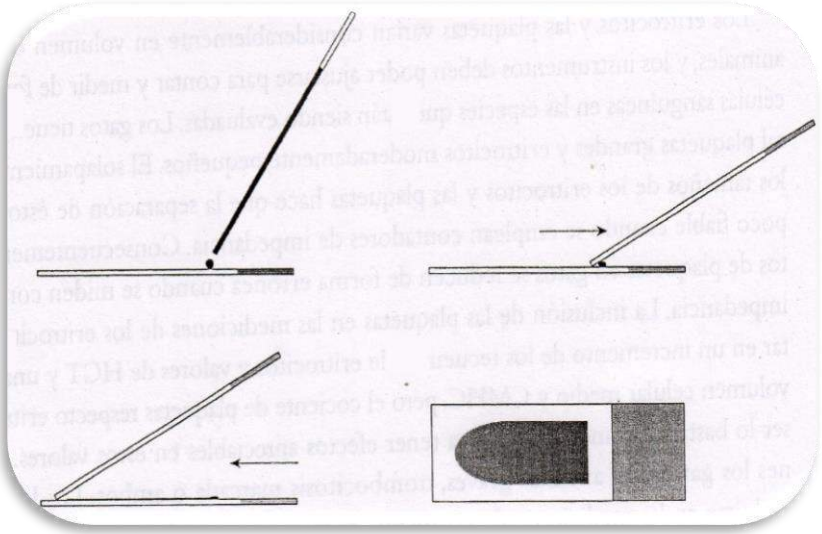
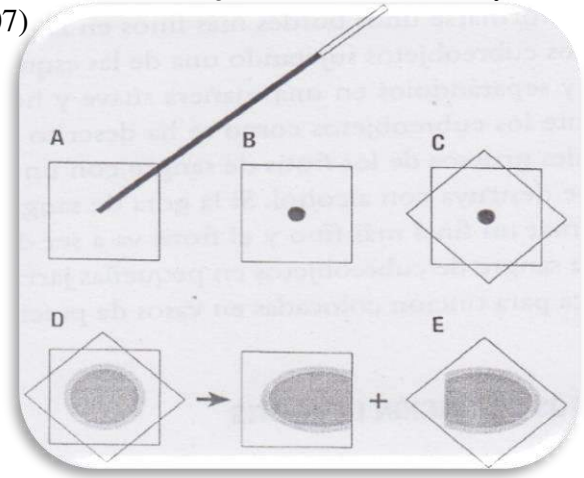


Fig. 3.2. Método del Portaobjetos. Tomado de Meyer y Harvey (2007)

- Una extensión delgada es esencial para la buena observación de la morfología celular; aunque esto dependerá del tamaño de la gota de sangre, el ángulo que formen ambos portaobjetos y de la rapidez con que se deslice el portaobjetos extensor.

3.2.1.2. Método del Cubreobjetos

Fig. 3.3. Método del Cubreobjetos. Tomado de Meyer y Harvey (2007)



1. Una vez homogenizada la muestra se toma sangre con un capilar o un aplicador.
2. Se deposita una gota de sangre en el centro de un cubreobjetos.
3. Colóquese con suavidad el segundo cubreobjetos diagonalmente sobre el primero, y la sangre se extenderá por capilaridad.
4. Una vez se haya extendido casi por completo, se desliza un cubreobjetos de manera uniforme en dirección paralela a la superficie de contacto, hasta separarlos.
   - ✓ No debe ejercerse tracción transversal a la superficie de contacto, para evitar que queden lagunas en el frotis.
5. Séquese rápidamente moviéndolo en el aire.

3.2.1.3. Principales Defectos de una Extensión Sanguínea

Según Messeguer *et al.* (1992) los principales defectos pueden ser:

- Extensión demasiado gruesa: la gota de sangre era excesiva.
- Extensión demasiado delgada: la gota de sangre era insuficiente o la extensión se hizo muy lentamente.
- Alternancia de bandas gruesas y finas: la extensión se hizo con movimientos de tirón o vacilación
- Presencias de rayas a lo largo de toda la preparación (en especial en la cola): el borde extensor del portaobjetos era irregular, la sangre se deseco en el borde extensor o había polvo sobre el portaobjetos.
- Aparición de manchas sin sangre en la extensión: presencia de grasa en el portaobjetos.
- Extensión demasiado estrecha y gruesa: se realizó antes que la sangre se hubiera extendido en el borde del extensor, o uno de los lados del portaobjetos se levantó durante la extensión.

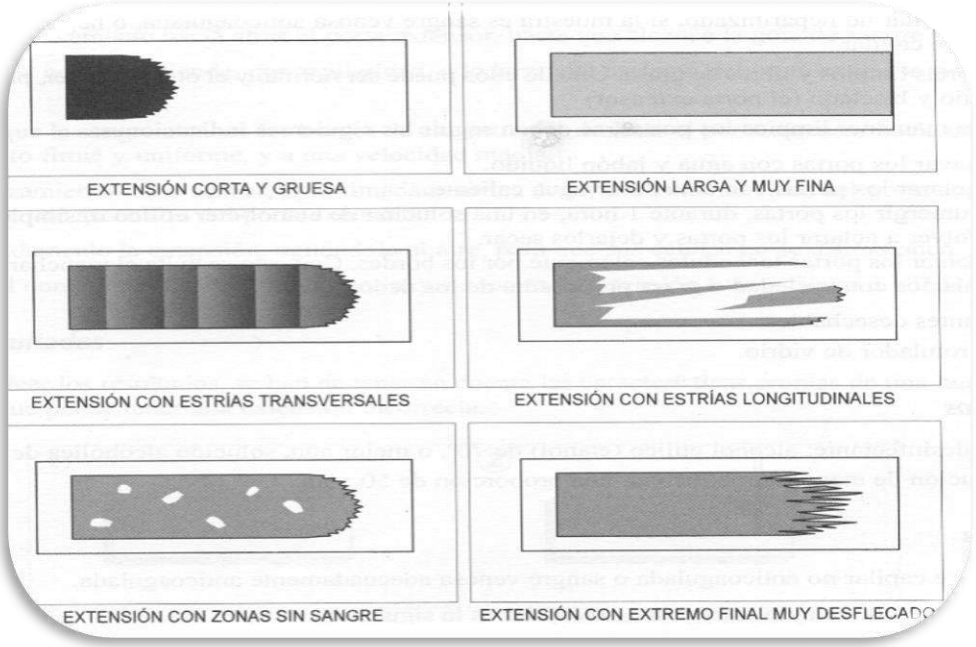


Fig. 3.4. Defectos en la Extensión Sanguínea

Cuadro 3.2. Causas y Soluciones de las Extensiones de Mala calidad

Problema	Causa	Solución
Extensión demasiado larga (el extremo fino ha desaparecido del extremo)	Velocidad de extensión demasiado lenta	Más velocidad de extensión
	Sangre poco viscosa, es decir, anemia	--
	Demasiada sangre aplicada al portaobjetos	Aplicar una muestra más pequeña de sangre
Extensión demasiado corta/gruesa	Velocidad de extensión demasiado rápida	Disminuir la velocidad de extensión
	Sangre de viscosidad elevada, es decir, Hto elevado	--

El extremo fino tiene muchos picos	Contacto irregular del extensor con el portaobjetos	Aplicar una presión uniforme utilizando el dedo índice en el extremo del extensor
	El extensor tiene el borde irregular	Cambiar el extensor
El frotis tiene agujeros o vacíos	Grasa en el portaobjetos	Limpiar los portaobjetos antes de utilizarlos
	Lipemia	--
Extensión gruesa en el extremo fino del frotis	Sangre delante del portaobjetos extensor	Asegurar un contacto firme del extensor en el frotis cuando se desliza el extensor hacia la gota de sangre

Fuente: Villiers y Blackwood (2005)

3.2.2. Tinción del Frotis Sanguíneo

Una vez realizado el frotis se procede a su tinción, por uno de los diferentes procedimientos de tinción, que a continuación se describirán; pero antes de describirlos hay que recordar que tanto en la preparación de los colorantes como en el lavado de los frotis, deberá utilizarse agua destilada, desionizada o tamponada (amortiguada), para estabilizar el pH y evitar deformaciones celulares y/o precipitaciones del colorante (Messeguer *et al*. 1992).

El Agua Tamponada puede prepararse, como sigue:

- Solución A:
  - Fosfato bicálcico: 0.98 g
  - Agua destilada: 1,000 ml

- Solución B:
  - Fosfato monopotásico: 2.28 g
  - Agua destilada: 1,000 ml

- Para conseguir una solución neutra se mezclaran ambas soluciones en partes iguales, pero si se desea ligeramente alcalina se mezcla 5 partes de Solución A y 4.5 partes Solución B.

Las tinciones de Romanowsky, son preparaciones policromicas, que tiñen ciertos grupos ácidos de azul a purpura; los grupos básicos se tiñen de rojo a naranja. Ejemplo de tinciones que se basan en esta técnica, tenemos a: Tinción de Wright, Tinción de Giemsa, entre otros (Duncan y Prasse 2005).

Estos colorantes son mezclas de azul de metileno, que ha sido modificado para formar colorantes de azur, y eosina. El azur tiñe de azul la cromatina nuclear, y la eosina, que forma un complejo eosina-azur, tiñe el citoplasma de rosa o anaranjado. El amortiguador alcalino favorece la acción del colorante básico, y el amortiguador acido ayuda a la tinción por eosina (Medway *et al*. 1973).

- Todas las soluciones colorantes deben prepararse inmediatamente antes de su uso, lo que quiere decir que se deben filtrar y diluir, solo hasta que se vayan a utilizar; ya que son estables por poco tiempo y después se produce precipitación del colorante (Messeguer *et al.* 1992).

3.2.2.1. Tinción de Wright

Según Benjamín (1962) la técnica sigue, a como se describe a continuación:

1. Fijar el frotis sanguíneo con metanol absoluto, cubriendo completamente la película y dejando actuar por 3-5 minutos; una vez transcurrido el tiempo se elimina el exceso, y se deja secar.
2. Cubrir el frotis sanguíneo, con tanta tinción de Wright sin diluir como pueda sostener y dejar así de 1-3 minutos.
   - ✓ Aproximadamente 1 ml o 20-25 gotas de colorante.
3. Añadir igual cantidad de solución amortiguadora o tamponada (pH 6.6-6.9), repartiéndola en todo el portaobjetos, y dejar actuar por 3-5 minutos.
   - ✓ Para mezclar apropiadamente la tinción Wright con la solución amortiguadora, se sopla ligeramente a través de la pipeta, sobre la superficie.
4. Lavar la extensión teñida, con abundante agua destilada; y se deja cubierta la preparación con agua durante ½ minuto aproximadamente, luego se vierte el exceso.
   - ✓ No escurrir la tinción antes de lavar, pues esto producirá precipitado.
5. Dejar secar al aire apoyado sobre un costado.

- Es un método rápido, que tiñe especialmente bien las estructuras acidofilas.

3.2.2.2. Tinción de Giemsa

Según Messeguer *et al.* (1992) la técnica sigue, a como se describe a continuación:

1. Una vez seco el frotis se fija con metanol absoluto durante 3 minutos, pasado este tiempo se escurre el exceso y se deja secar.
2. Se diluye a razón de 2 gotas de colorante comercial por cada ml de agua destilada.
   - ✓ cada portaobjeto requiere aproximadamente 2 ml para su tinción.
3. Se cubre con el colorante diluido, y se deja de 30-60 minutos.
4. Lavar la preparación con abundante agua y dejarla secar al aire, apoyado sobre un costado.
   - ✓ No escurrir la tinción antes de lavar, pues esto producirá precipitado.

- ❖ Existe una modificación en la cual se usa una dilución diferente para acelerar el proceso de tinción, 2 ml de Giemsa comercial por cada 8 ml de agua destilada y se deja actuar por 5 minutos, las otras etapas son similares a las descritas anteriormente.

- Tiñe bien los gránulos rojos (azurofilos), pero las granulaciones neutrofilas y los eritrocitos no resultan bien teñidos; Messeguer *et al.* (1992) recomienda que debe usarse en tinciones mixtas (ej. May-Grunwald-Giemsa).

Comercialmente se puede conseguir la tinción de Giemsa pura, pero si se desea puede prepararse, siguiendo uno de los siguientes procedimientos:

❖ **Método 1**

- Giemsa en polvo: 3.8 g
- Metanol: 350 ml
- Glicerina: 250 ml

❖ **Método 2**

- Giemsa en polvo (MERCK): 3 gr
- Metanol: 375 ml
- Glicerina: 125 ml

- Preparación: Para los Métodos 1 y 2 se procede de la siguiente forma; se mezclan todos los ingredientes depositándolos en un frasco ámbar y se agitan esmeradamente, luego se guarda la preparación por 14 días, mezclándolo de vez en cuando. Se filtra y diluye antes de usarlo.

❖ **Método 3**

- Giemsa en polvo: 5 g
- Metanol: 420 ml
- Glicerina: 270 ml

- Preparación: En un frasco ámbar de 1000 ml, agregar los 5 g de Giemsa, después los 270 ml de Glicerina y por último los 420 ml de Metanol. Se tapa bien y se agita esperadamente por un lapso de 20-30 minutos, una vez disuelto se somete a 60ºc por ½ hora en el Horno. Cada vez que se vaya a usar se debe filtrar.

3.2.2.3. Tinción de May-Grunwald y Giemsa

Según Messeguer *et al.* (1992) la técnica sigue, a como se describe a continuación:

1. Fijar con metanol absoluto durante 10 minutos, y luego verter el exceso.
2. Cubrir la preparación con colorante May-Grunwald comercial diluido, dejando actuar durante 5-10 minutos.
   - ✓ Se diluye a partes iguales con agua destilada.
3. Eliminar el exceso de colorante y sin lavar, cubrir la preparación con solución Giemsa, y se deja actuar por 20 minutos.
   - ✓ La solución de Giemsa, se prepara igual que en el procedimiento anterior (2 gotas de Giemsa por cada ml de agua destilada).
4. Verter el exceso de colorante y lavar con agua abundante, dejando el portaobjeto cubierto con agua durante 5-10 minutos más.
5. Una vez transcurrido el tiempo, se elimina el exceso de agua y se deja secar, apoyado sobre un costado.

- Aunque el procedimiento es largo, da muy buenos resultados y permite una mejor tinción de las granulaciones citoplasmáticas.

3.2.2.4. Tinción de Panóptico Rápido

Según Messeguer *et al.* (1992) es un procedimiento en el que se utilizan 3 soluciones colorantes ya preparadas comercialmente:

- Solución Metílica de Triarilmetano
- Solución Tamponada de Xanteno
- Solución Tamponada de Tiazina

Una vez realizado el frotis sanguíneo y secado al aire, se introduce durante 15 segundos en cada una de las soluciones consecutivamente, posteriormente se lava con agua abundante y se deja secar. Es un método ultrarrápido, sencillo y muy efectivo; el inconveniente es el costo.

3.2.2.5. Principales Defectos de las Tinciones

Según Benjamín (1962), Medway *et al.* (1973) y Messeguer *et al.* (1992) los principales defectos que pueden aparecer en el frotis teñido son:

- Frotis muy azulado, gránulos neutrófilos sobreteñidos y gránulos eosinofilos grisáceos:
  - Frotis demasiado grueso.
  - Tinción prolongada.
  - El lavado ha sido insuficiente.
  - El lavado se realizó con agua excesivamente alcalina.

- Núcleos de leucocitos de color azul pálido, los eritrocitos y gránulos eosinofilos son extraordinariamente rojos:
  - Sol. amortiguadora, agua de lavado o tintura demasiado acidas.

- Frotis muy débilmente teñido:
  - Tinción deficiente.
  - Lavado fue excesivo o con agua caliente.

- Cambios de coloración en distintas áreas del frotis:
  - Mal lavado de las extensiones.
  - Defectos en el escurrido.

- Precipitación del colorante:
  - Lavado insuficiente.
  - El colorante no fue bien filtrado antes de su dilución o utilización.
  - Excesivo tiempo de tinción, con evaporación alcohólica de la solución colorante.
  - Acumulo excesivo de colorante en uno de los extremos de la preparación, por inclinación del portaobjetos.
  - Escurrimiento del colorante antes de lavar el frotis.

3.2.3. Estudio del Frotis Teñido

Villiers y Blacwood (2005) mencionan la importancia del frotis sanguíneo, y que siempre debe evaluarse junto con los recuentos de las células sanguíneas, ya que permiten conocer:

- Comprobar el Recuento Diferencial de Leucocitos.
- Evaluar la presencia de Anormalidades Morfológicas en los Leucocitos.
- Estimar el número de Plaquetas promedio en sangre, a través de los Métodos Indirectos.
- Evaluar la presencia de Anormalidades en la Morfología Plaquetar.
- Evaluar la Morfología de los Eritrocitos, en cuanto a: Tamaño, Color, Forma, Aparición de Hematíes Inmaduros, Presencia de Inclusiones en los Hematíes, entre otros.

3.3. SERIE ROJA

3.3.1. Generalidades

Los eritrocitos maduros, se forman por un proceso conocido como Eritropoyesis; en el cual la célula indiferenciada pluripotencial en la medula ósea, produce células unipotenciales. En este caso sería la célula unipotencial que posteriormente dará origen a los eritrocitos (Jardon 2003).

El Rubriblasto es el primer precursor del eritrocito, el cual se divide para producir 2 Prorubricitos, los cuales a su vez se dividirán en 2 Rubricitos; en la fase de Rubricito hay 2 divisiones, y posteriormente se transforman al madurar en Metarrubricitos, a partir de dicha fase ya no hay ninguna división de las células, solamente maduración. El núcleo picnótico del Metarrubricito es expulsado, y esta célula se convierte en Reticulocito, el cual al madurar se convierte en un Eritrocito Maduro (Reagan 1999).

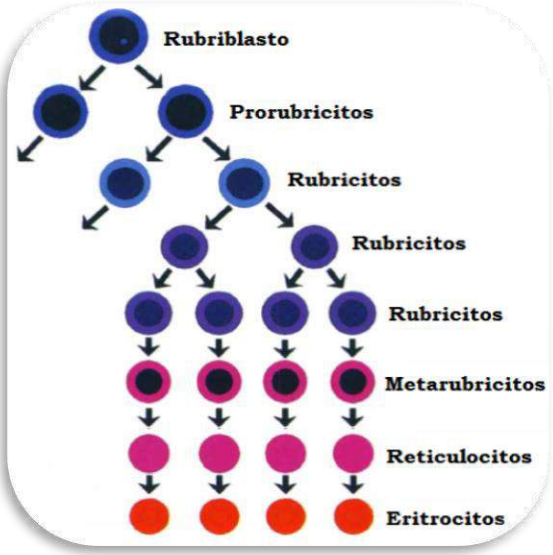


Fig. 3.5. Esquema de la Eritropoyesis.
Tomado de Harvey (2001)

❖ **Descripción Morfológica de las Fases que Componen la Eritropoyesis, según Reagan (1999) y Jardon (2003):**

A. Rubriblasto: es una célula grande y redonda con un núcleo grande y redondo con bordes, con una cromatina granular gruesa y 1-2 nucléolos, prominentes; el citoplasma es intensamente basofilico (azul oscuro), que forma un anillo delgado alrededor del núcleo.

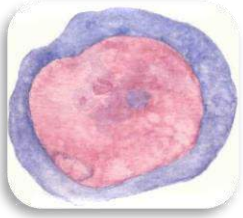


Fig. 3.6. Rubriblasto.
Tomado de Jardon (2003)

B. Prorubricito: redondo y del mismo tamaño o a veces más que el Rubriblasto, tiene un núcleo redondo, y con el patrón de cromatina es más compacta que en el Rubriblasto; normalmente no existe nucléolo, y el citoplasma es ligeramente menos intenso y forma un anillo delgado alrededor del núcleo menor que el Rubriblasto.

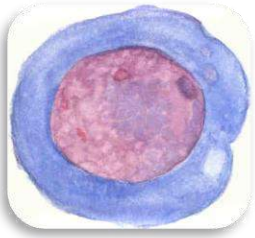


Fig. 3.7. Prorubricito.
Tomado de Jardon (2003)

C. Rubricito: más pequeño que el Prorubricito, de núcleo redondo y cromatina granular gruesa es más densa que las primeras fases, hay una pequeña cantidad de citoplasma azul oscuro; aunque algunos de los Rubricitos más maduros, presentan un citoplasma azul-rojizo.

Fig. 3.8. Rubricito.
Tomado de Jardon (2003)

D. Metarrubricito: es más pequeño que el Rubricito, con núcleo redondo o ligeramente oval, el cual es extremadamente picnótico y muy oscuro, de posición excéntrica y sin poder distinguir el patrón de cromatina; hay una cantidad moderada de citoplasma azul o azul-rojizo.

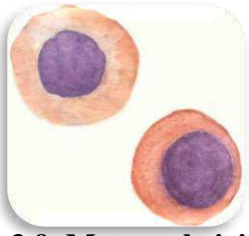


Fig. 3.9. Metarrubricito.
Tomado de Jardon (2003)

E. Reticulocitos: son eritrocitos no nucleados, redondos, que presentan gránulos o redes de gránulos cuando las preparaciones son teñidas con tinciones supravitales y teñirse de verde-azulado. En la mayoría de las especies puede encontrarse un único tipo de Reticulocito; pero en los felinos pueden encontrarse 2 tipos:

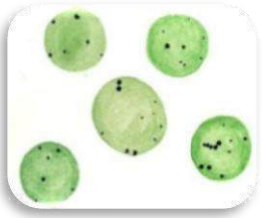
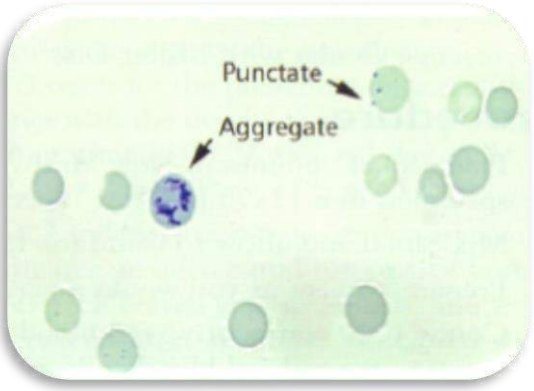


Fig. 3.10. Reticulocitos.
Tomado de Jardon (2003)

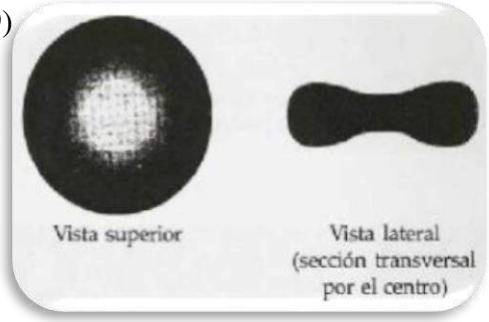


- ✓ Punctata: poseen únicamente unos cuantos puntos de retículo asilados, que no se unen
- ✓ Agregata: poseen retículo abundante

Fig. 3.11. Reticulocito Punctata y Reticulocito Agregata.
Tomado de Sink y Feldman (2004)

Fig. 3.12. Esquema de Eritrocito Normal. Tomado de Reagan (1999)

F. Eritrocitos Maduros: los eritrocitos de los mamíferos no poseen núcleo y el citoplasma es rojizo o rojizo-anaranjado, de forma discoidal bicóncava. Sus características morfológicas varían según las especie de la que se trate (Cuadro 2.3).



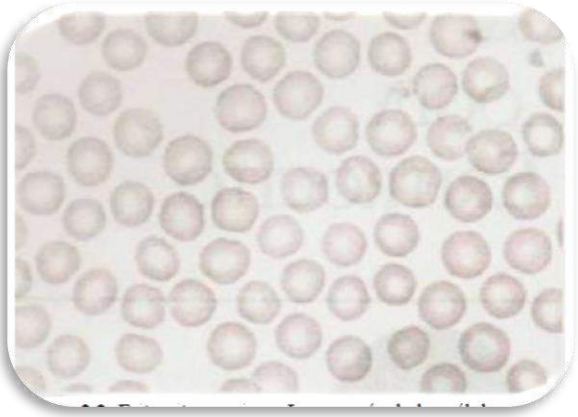


Fig. 3.13. Eritrocitos de Caninos.
Tomado de Reagan (1999)

Fig. 3.14. Eritrocitos de Felinos. Tomado de Reagan (1999)

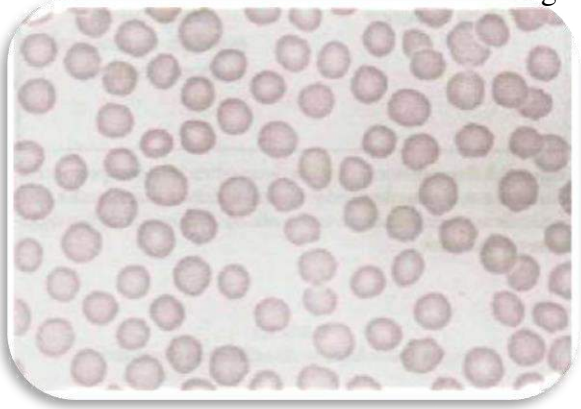


Fig. 3.15. Eritrocitos de Equinos. Tomado de Reagan (1999)

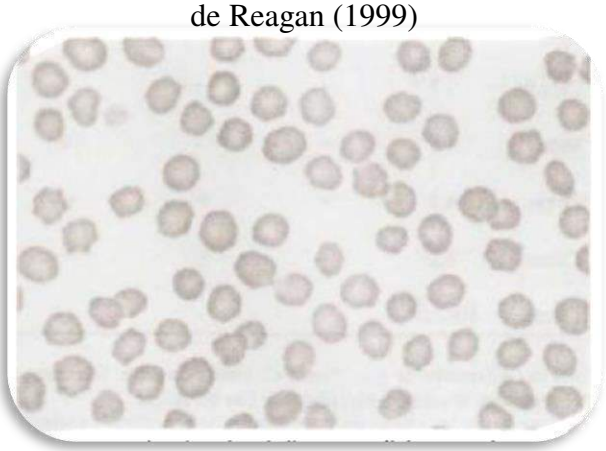
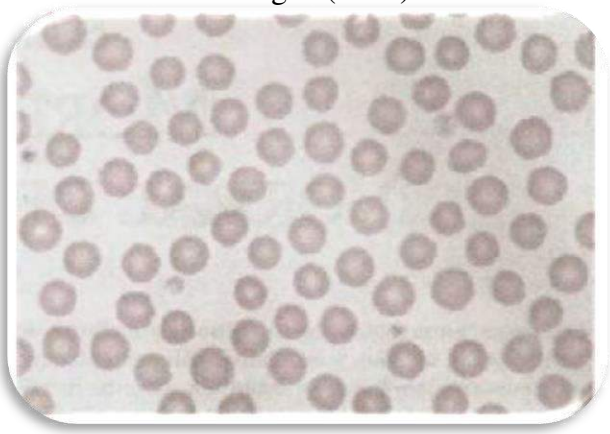


Fig. 3.16. Eritrocitos de Bovinos. Tomado de Reagan (1999)



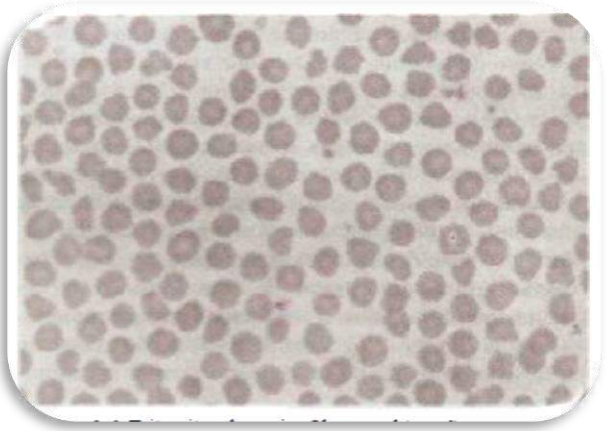


Fig. 3.17. Eritrocitos de Ovinos. Tomado de Reagan (1999)

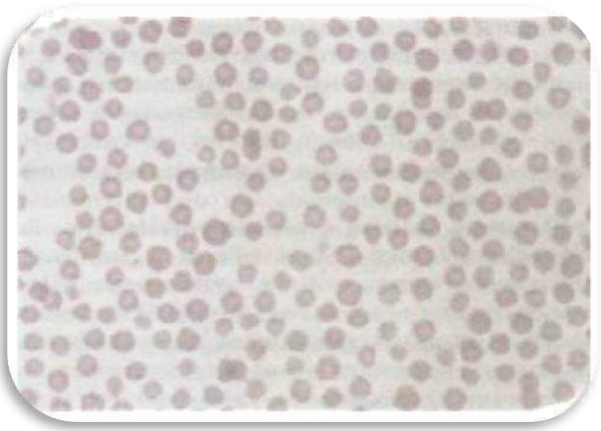


Fig. 3.18. Eritrocitos de Caprinos. Tomado de Reagan (1999)

Cuadro 3.3. Rasgos Morfológicos de Eritrocitos Normales

Especie	Diámetro (µ)	Palidez Central	Concavidad	Pilas de Moneda	Anisocitosis
Caninos	7	++	+++	+	-
Felinos	5.8	+	++	++	+
Equinos	5.7	+/-	++	+++	-
Bovinos	5.5	+	+++	-	+
Ovinos	4.5	+	+++	+/-	+/-
Caprinos	3.2	+/-	+	+/-	+

Fuente: Reagan (1999)

Los principales parámetros a evaluar en la Serie Roja son: Determinación del Hematocrito, Determinación de Hemoglobina, Recuento de Eritrocitos; con estos 3 valores podemos también, determinar los Índices Eritrocitarios. La determinación de todos ellos va dirigida al diagnóstico de las Anemias o Eritrocitosis, y la determinación de los Índices Eritrocitarios va dirigida a la clasificación de la Anemia.

3.3.2. Evaluación Laboratorial de los Eritrocitos

3.3.2.1. Determinación de Hematocrito

Indica la relación entre el volumen de los eritrocitos y el de la sangre total. Es la prueba orientativa más valiosa en las situaciones de anemia, sencilla de realizar; y debe hacerse en las primeras 5 horas después de recogida la sangre. Existen 2 métodos, el Macrométodo (Método de Wintrobe) y el Micrométodo (Microhematocrito); de los cuales el Microhematocrito es el que se utiliza en la actualidad, por su facilidad y rapidez (Messeguer *et al*. 1992).

❖ Ventajas del Método de Microhematocrito:

- Necesita menos cantidad de sangre.
- Es más rápido en su ejecución.
- Permite la obtención de resultados más exactos y reproducibles.

❖ Desventajas del Método de Microhematocrito:

- Se necesitan centrifugas y lector especiales.
- No es posible determinar paralelamente la velocidad de sedimentación.
- Es más fácil evaluar el grosor de la capa intermedia (leucocitos y plaquetas) y valorar los cambios en el color de la columna de plasma.

❖ **Materiales**

- ✓ Microcentrifuga
- ✓ Lector de Microhematocrito
- ✓ Capilares Azules (sin Heparina) o Rojos (con Heparina)
- ✓ Cera Selladora
- ✓ Muestra de sangre

Cuando la sangre ya contiene anticoagulante, se capilares usan sin heparina (azules); pero cuando la muestra se toma directamente de la oreja, labio o dedo; debe usarse los capilares heparinizados (rojos) (Benjamín 1962).

❖ **Procedimiento**

1. Homogenizar la muestra en el tubo de ensayo suave y uniformemente.
2. Tomar la muestra con el capilar azul, la cual entrara por simple capilaridad; llenando aproximadamente el 80% o ¾ partes del capilar.
3. Ocluir un extremo del capilar con la cera selladora.
4. Colocar el capilar en las ranuras numeradas del cabezal de la microcentrífuga; con el extremo ocluido al borde externo de la plataforma, en otras palabras apuntando hacia afuera, lejos del centro. En cambio sí se usa una centrifuga clínica, el extremo ocluido del capilar ira hacia el fondo del tubo para centrifuga.
5. Centrifugar entre 11,000-13,000 r.p.m. durante 4-5 minutos; o a 2,500-3,000 r.p.m. durante 10 a 15 minutos.

- Una vez centrifugado, el capilar se habrá dividido en 3 partes:
  - Columna de Eritrocitos.
  - Capa de Leucocitos y Plaquetas.
  - Columna de Plasma.

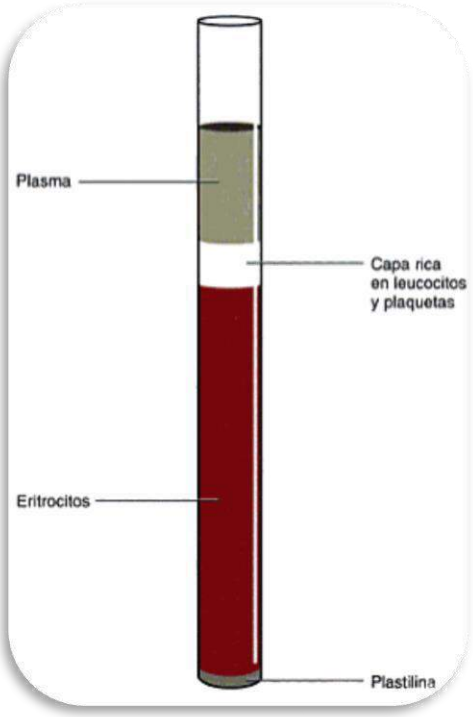


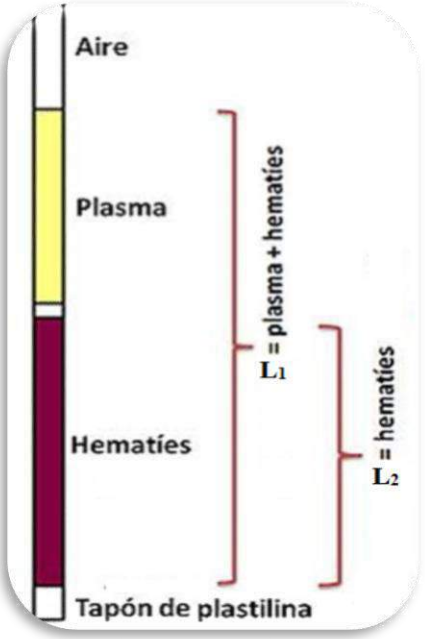
Fig. 3.19. Representación de un Tubo Capilar después de Centrifugarse

❖ **Lectura**

1. Sostener el tubo frente a la escala de manera que el fondo de la columna de eritrocitos quede exactamente al mismo nivel de la línea horizontal correspondiente a 0.
2. Desplazar el tubo a través de la escala hasta que la línea marcada con el número 100 quede al nivel del tope de la columna de plasma.
3. La línea que pase al nivel del tope de la columna de eritrocitos indicará el porcentaje del Hematocrito.

- Errores frecuentes que pueden ser causas de error en la valoración del hematocrito, según Messeguer *et al.* (1992) pueden ser:
  - El exceso de anticoagulante produce un falso descenso en el valor del hematocrito.
  - La principal fuente de error radica en la centrifugación, en el cual las plaquetas, leucocitos y plasma resultan atrapados entre las células rojas:
    - En el Macrométodo existe un error del 2-8%.
    - En el Micrométodo existe un erros del 0.5%.

Fig. 3.20. Representación Gráfica de L_1 y L_2



- De no haber una escala o tarjeta especializada para la lectura del Hematocrito, este se puede obtener a través de una fórmula matemática, utilizando el tamaño en centímetros que ocupa la Columna de Plasma + Hematíes, y el tamaño de la Columna de Hematíes. La fórmula matemática a utilizar es la siguiente:

➢ **Hematocrito** (%) = $\frac{L_2}{L_1} * 100$

3.3.2.2. Determinación de Hemoglobina

La hemoglobina, componente principal de los eritrocitos, es una proteína conjugada que sirve de vehículo para el transporte de O_2 y CO_2. Está estrechamente relacionada con la Determinación de Hematocrito y Conteo de Glóbulos Rojos, de forma que sus variaciones obedecen a causas similares a las de los anteriores (Messeguer *et al.* 1992).

La hemoglobina puede ser cuantificada por diversos métodos, como son: Métodos Indirectos, de la Hematina Acida, de la Oxihemoglobina (Hemoglobinometro de Spencer), a través del Método de la Cianometahemoglobina (Espectrofotometría) y actualmente por métodos automatizados (Jardon 2003).

A. Método Indirecto para el Cálculo de la Hemoglobina

La concentración de hemoglobina es el indicador más directo de la capacidad de transporte de oxigeno de la sangre y puede ser aproximadamente de un tercio del hematocrito, si los eritrocitos son de tamaño normal (Duncan y Prasse 2005).

Según Benjamín (1962) y Medway *et al.* (1973) al existir una relación aproximada entre el hematocrito y la hemoglobina; se puede realizar una estimación burda de la cantidad de hemoglobina, dividiendo entre 3, el valor del hematocrito, como se ve refleja en la siguiente formula:

- **Hemoglobina** (g/dl) = Hto (%) ÷ 3

B. Método de la Hematina Acida

Se basa en la conversión de la hemoglobina en hematina acida, por acción del ácido clorhídrico y medida de la concentración de hemoglobina en función de la intensidad del color resultante. Se trata pues de una reacción colorimétrica que puede leerse visualmente (Hemoglobinometro de Sahly, método en desuso hoy en día), o bien espectrofotométricamente, lo que permite una mayor precisión y exactitud (Messeguer *et al*. 1992).

a. Espectrofotómetro

❖ **Materiales**

- ✓ Espectrofotómetro
- ✓ Ácido Clorhídrico 1%
- ✓ Pipeta automática de 10/100 y puntas para pipeta
- ✓ Cubetas
- ✓ Muestra de sangre problema

❖ **Procedimiento**

1. Se utiliza un tubo blanco y otro para cada una de las muestras a analizar, en los cuales se colocan los reactivos, según el siguiente esquema:

	Blanco	Problema
ClH 1%	5 ml	5 ml
Sangre	--	20µ

2. Se mezcla el contenido de los tubos, y se dejan en reposo durante 60 minutos.
   - ✓ La lectura debe hacerse en transmitancias a una longitud de onda de 525 nm.
3. Pasado el tiempo de incubación, se introduce en el espectrofotómetro el tubo blanco, con el que se hace el 100% de transmitancia, y luego se retira.
4. Se introduce el tubo problema, anotando la transmitancia correspondiente al mismo.

- Si se desea conocer los resultados en menor tiempo, se pueden practicar lecturas a los 20 y 40 minutos, ya que existe un desarrollo de color equivalente al 98 y 99%, respectivamente.

C. Método de la Oxihemoglobina

Se utiliza el Hemoglobinometro de Spencer, que mide directamente la oxihemoglobina en función de su absorción lumínica en la banda verde del espectro, utilizando un filtro adecuado y comprobando el color con el de una lente de color estándar; también haciendo uso previo de la saponina, para hemolizar la sangre (Benjamin 1962 y Messeguer *et al.* 1992).

❖ **Procedimiento**

Según Benjamin (1962) y Medway *et al.* (1973) la técnica sigue a como se describe a continuación:

1. Se coloca una gota grande de sangre en el fondo de la cámara de exposición.
2. Se hace girar la sangre suavemente en forma circular con un aplicador para hemolisis (palillo delgado cubierto de saponina), por al menos 1 minuto.
   - ✓ El líquido debe tener el color rojo del vino, que pierda su aspecto nuboso, sin turbiedad y que no contenga burbujas.
3. Se empuja la cámara dentro del sujetador, que la mantiene contra el cubreobjetos, formando una sola pieza.
   - ✓ La muestra debe haber cubierto toda la plataforma y llenado el espacio entre la plataforma y el cubreobjetos.
4. Se inserta en la rendija del aparato, y se oprime el botón de alumbrado.
5. Se observa por el ocular y se mueve la palanca a un lado, hasta que los ambos campos se igualen.

- Si hay menos de 4 g/dl de hemoglobina, se debe cubrir la cámara con una segunda cámara, de forma que proporcione un espesor doble, lo que dará una mayor sensibilidad en la determinación; luego se dividirá entre 2 el resultado (Benjamin; 1962).

Según Medway *et al*. (1973) los errores se pueden deber a:

- Deficiente mezclado de la muestra antes de llenar la cámara.
- Insuficiente llenado de la cámara.
- Hemolisis incompleta, que origina valores altos.
- Burbujas en la muestra.
- Errores del instrumento, como: lámpara pronta a fundirse, baterías bajas, cristalería sucia.

- El Hemoglobinometro de Spencer, es el instrumento indicado para su uso en un laboratorio común o en el campo; por la rapidez de sus determinaciones, por no requerir de pipetas ni soluciones, y porque la aproximación (± 5-10%) que proporciona está dentro de los márgenes de utilidad clínica (Benjamín 1962).

D. Método de la Cianometahemoglobina (Espectrofotometría)

Posiblemente es el procedimiento más exacto para la valoración de la hemoglobina. El ferrocianuro convierte el hierro de la molécula hemoglobina del estado ferroso al férrico, para formar metahemoglobina en una solución alcalina; la metahemoglobina se combina con el cianuro de potasio formándose Cianometahemoglobina, el cual es un pigmento estable (Messeguer *et al*. 1992).

❖ Ventajas:

- Las soluciones de Cianometahemoglobina son más estables, pueden estandarizarse con exactitud.
- Todas las formas de hemoglobina, excepto la sulfametahemoglobina pueden cuantificarse con este procedimiento.

Fig. 3.21. Muestra en un Espectrofotómetro

Este método también tiene sus limitaciones, ejemplo de esto es que, en sangres lipemicas o en aquellas en que los eritrocitos contengan abundantes cuerpos de Heinz; los valores de hemoglobina resultan falsamente elevados (Duncan y Prasse 2005).

❖ **Procedimiento**

1. Se colocan en un tubo de ensayo 5 ml de solución diluyente de Drabkin.

   ♣ **Solución de Drabkin** según Messeguer *et al.* (1992)

   - Bicarbonato de Sodio: 1 g
   - Cianuro Potásico: 50 mg
   - Ferrocianuro Potásico: 200 mg
   - Agua Destilada: 1000 ml

2. Luego se colocan 20µl de la sangre problema, y se mezclan.
3. Se dejan en reposo 10 minutos antes de realizar la lectura del porcentaje de transmitancia o de la densidad óptica del complejo de color formado a 540 nm.
4. La concentración de Hemoglobina de la muestra se calcula comparando esta lectura con la obtenida a partir de Cianometahemoglobina estándar, o bien a partir de una curva estándar.

Fig. 3.22. Pipeta de Thomas para Glóbulos Rojos

3.3.2.3. Conteo Eritrocito

El recuento de glóbulos rojos nos informa del número de eritrocitos por mm^3 de sangre.

❖ **Materiales**

- ✓ Microscopio
- ✓ Cámara de Neubauer Modificada
- ✓ Solución de Hayem
- ✓ Método A:
  - Pipeta de Thomas para Glóbulos Rojos
- ✓ Método B:
  - Pipetas Automáticas (1 de 10/100 y 1 de 100/1,000)
  - Puntas para los 2 tipos de Pipetas Automáticas

♣ **Solución de Hayem** según Messeguer *et al.* (1992)

- Sulfato Sódico: 2.5 g
- Cloruro Sódico: 0.5 g
- Bicloruro de Mercurio: 0.25 g
- Agua Destilada: 100 ml

❖ **Procedimiento**

A. Uso de Pipetas de Thomas

1. Se trabaja con una dilución de sangre 1:200, para lo cual se toma sangre hasta la marca 0,5 y de Sol. de Hayem hasta la marca 101 de la Pipeta de Thomas para Glóbulos Rojos.
   - ✓ Limpiar la punta de la pipeta después de aspirar cada líquido; así como también, evitar la formación de burbujas.
2. Agitar vigorosamente la pipeta, en posición horizontal, ocluyendo ambos extremos, durante al menos 2 minutos.
3. Se coloca el cubre sobre las 2 superficies laterales de la Cámara de Neubauer y procurando que quede adherido a la cámara.
4. Se procede al llenado, descartando las primeras 2-3 gotas; tras ello secamos la punta de la pipeta y se coloca la pipeta en un ángulo de 45º grados, controlando la salida de líquido, dejando que el líquido llene el espacio entre el cubre y la cámara, por capilaridad del líquido.
5. Se llevara la cámara al microscopio y se esperara de 2-3 minutos para que se produzca la sedimentación de las células y llevar a cabo el conteo.

B. Uso de Pipetas Automáticas o Micropipetas

1. Se trabaja con una dilución de 1:200; en un tubo de ensayo de 5 ml, se descargaran 980µl de Sol. de Hayem usando la Pipeta de 100/1,000, posteriormente se adicionan 20µl de sangre usando la Pipeta de 10/100.
2. Agitar vigorosamente el tubo de ensayo, tapando el extremo; durante al menos 2 minutos
3. Se coloca el cubre sobre las 2 superficies laterales de la Cámara de Neubauer, procurando que quede adherido a la cámara.
4. Se procede al llenado, colocando la Pipeta en un ángulo de 45º grados y depositando 10µl aproximadamente, dejando que el líquido llene el espacio entre el cubre y la cámara, por capilaridad del líquido.
5. Se llevara la cámara al microscopio y se esperara de 2-3 minutos para que se produzca la sedimentación de las células y llevar a cabo el conteo.

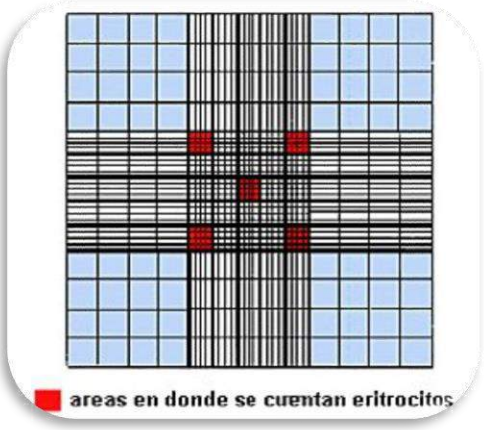


Fig. 3.23. Área de Conteo de los Eritrocitos

❖ **Lectura**

1. Se lee a objetivo 40x.
2. Se lee 5 cuadrantes, los cuales están ubicados en el centro del Retículo, también llamado Retículo Central (E, F, G, H, I); estos a su vez están divididos en 16 cuadriculas más pequeñas; en estos se realizara el recuento de Eritrocitos.

- ✓ Los cuadrantes E, F, G, H se localizan en los extremos del Retículo central, y el cuadrante I se encuentra localizada en el centro propiamente dicho del Retículo.

3. Se examinan en un orden fijo, comenzando por el extremo superior izquierdo y siguiendo una trayectoria en zig/zag hasta haber contado todas las células contenidas en las 16 cuadriculas, repitiendo la misma operación en los otros 4 cuadrantes a contar del Retículo Central.

- Hay células que caen sobre los bordes limitantes, por esta razón se recomienda contar sistemáticamente las células que caigan sobre 2 de los bordes (superior y derecho), despreciando las que caigan sobre los otros 2 bordes (inferior e izquierdo).

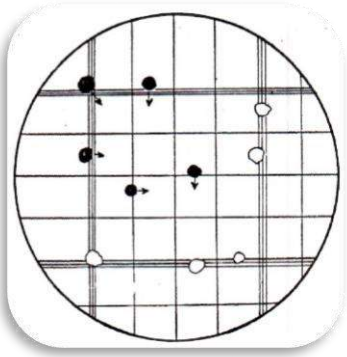


Fig. 3.24. Selección de las Células a Contar. Tomado de Coffin (1952)

- **Calculo**

A. Según Messeguer *et al.* (1992)

- Nº de Eritrocitos / mm^3 de sangre = F*D*S*A

  - **F** - Cifra Fundamental = Es el promedio de Eritrocitos en cada cuadricula fundamental. Se calcula, dividiendo el total de Eritrocitos contados, entre las 80 cuadriculas sobre las que se ha realizado el contaje (N/80).

  - **D** – Inverso de la Dilución empleada = como se trabajó a dilución de 1:200, multiplicaremos por 200.

  - **S** – Inverso de la Superficie de cada una de las Cuadriculas Fundamentales = en este caso 25/16 mm^2, dando 400 que será con lo que se trabajara.

  - **A** – Inverso de la Altura existente entre el Retículo de la Cámara y el Cubre = dicha altura es de 1/10 mm, dando 10 que será con lo que se trabajara.

- La fórmula final queda pues como sigue:

  - Numero de Eritrocitos / mm^3 de sangre = N/80 * 200 * 400 * 10

B. Según Coffin (1952)

  - GR = Σ (E+F+G+H+I) * 10,000

  - GR = Σ (E+F+G+H+I) ÷ 100

2.3.2.4. Determinación de Índices Eritrocitarios

Una vez se hayan obtenido los valores de Hematocrito, Hemoglobina y Recuento de Eritrocitos, se pueden calcular los Índices Eritrocitarios mediante el uso de fórmulas matemáticas; los cuales permiten deducir las características de los eritrocitos y clasificar la anemia. Los diferentes Índices Eritrocitarios proporcionan información sobre el Tamaño (V.C.M.), Concentración de Hemoglobina (C.M.H.C.) y Cantidad de Hemoglobina (H.C.M.) (Messeguer *et al*. 1992).

A. Volumen Corpuscular Medio (V.C.M.)

Expresa el promedio de los volúmenes individuales de los eritrocitos, se mide en Femtolitros (Fl) y se calcula según la fórmula siguiente:

- VCM= Hematocrito (%) x 10 / n° de hematíes

B. Concentración Media de Hemoglobina Corpuscular (C.M.H.C.)

Es la concentración de hemoglobina que, por término medio, posee el eritrocito o el peso de la hemoglobina y el volumen en que esta contenido; se expresa en porcentaje o en gr/dl. Se calcula según la fórmula siguiente:

- CMCH= Hemoglobina (gr/dl) x 100 / Hematocrito (%)

C. Hemoglobina Media Corpuscular (H.M.C)

Expresa el peso de hemoglobina por eritrocito, se mide en Picogramos (Pg) y para calcularla utilizamos la siguiente fórmula:

- HCM= Hemoglobina (gr/dl) x 100 / n° de hematíes

3.3.3. Alteraciones de la Serie Roja

3.3.3.1. Interpretación de la Determinación de Hematocrito

A. Aumento del Valor del Hematocrito

Debido casi siempre a una deshidratación, que provoca el aumento relativo del número de eritrocitos; no obstante, es posible que se produzca por un aumento verdadero o absoluto del número de eritrocitos, a lo que se le conoce como Eritrocitosis.

B. Disminución del Valor del Hematocrito

Nos indica la existencia de anemias, y en tales casos debe hacerse también el Recuento de Eritrocitos y la Determinación de Hemoglobina, permitiendo confirmar la anemia o no; así como calcular los Índices Eritrocitarios y clasificar el tipo de Anemia, que padece el paciente (Messeguer *et al*. 1992).

C. Cambios Macroscópicos en la Coloración de la Columna de Plasma

El plasma en condiciones normales, es transparente e incoloro (caninos y felinos) a ligeramente amarillo (equinos y bovinos). En ciertas alteraciones puede tener ciertos cambios de color; como en el Plasma Ictérico que es transparente y amarillo, el Plasma Hemoglobinemico que es de color entre rosado y rojo con aspecto transparente, y el Plasma Lipemico el cual es de color entre blanquecino y rosado con aspecto opaco. (Duncan y Prasse 2005).

Según Messeguer *et al.* (1992) los diferentes cambios de color que puede sufrir el plasma, se puede interpretar, como sigue:

- Plasma Ictérico: coloración amarillenta por la presencia de Bilirrubina en concentraciones superiores normales (Hiperbilirrubinemia). Se da en casos de lesiones hepáticas graves o en las obstrucciones de los conductos biliares; así como también indicio de la infección por Hematozoarios.

- Plasma Hemoglobinemico: de un color rojizo más o menos intenso, pudiendo ser por defectuosa recogida de la muestra o de un proceso hemolítico en el paciente.

- Plasma Lipemico: de aspecto lechoso, debido a la presencia de gotitas de grasa en la sangre. Se presenta en animales que han ingerido alimento 3 horas antes de la extracción de la muestra, o en pacientes hepáticos.

D. Interpretación del Hematocrito y de las Proteínas Plasmáticas

Según Villiers y Blackwood (2005) el Hematocrito y las Proteínas Plasmáticas deben interpretarse conjuntamente, a razón de esto se presenta la describe la siguiente clasificación:

- Hematocrito bajo junto con Proteínas Plasmáticas bajas: se presenta en hemorragias reciente o en curso, donde las proteínas plasmáticas se pierden junto con los eritrocitos. Una hemorragia interna inicialmente puede causar solo una pequeña reducción de las proteínas plasmáticas, y después las proteínas se reabsorben rápidamente.

- Hematocrito normal junto con Proteínas Plasmáticas bajas: normalmente indica Hipoproteinemia (hipoalbuminemia) por causas distintas a la hemorragia; estas incluyen fallo de la producción (ej. fallo hepático crónico) o perdida de proteínas (ej. Glomerulonefropatia).

- Hematocrito alto junto con Proteínas Plasmáticas altas: se observa cuando hay deshidratación. La pérdida de agua del cuerpo produce una concentración aumentada de eritrocitos y proteínas; no obstante, estos parámetros proporcionan solo una estimación del estado de hidratación del animal.

- Hematocrito bajo junto con Proteínas Plasmáticas altas: debido a una hiperproteinemia (hiperglobulinemia). Puede verse en animales con mieloma y algunos linfomas de células B; asi como en algunas enfermedades infecciosas (ej. Ehrlichiosis).

3.3.3.2. Interpretación de la Determinación de Hemoglobina y Conteo de Eritrocitos

La mayor importancia de la Determinación de Hemoglobina y Conteo de Eritrocitos, radica en la posibilidad de calcular los Índices Eritrocitarios. En términos generales podemos decir, que una disminución de estos dos valores indica situaciones de anemia; mientras que el aumento puede indicar un estado de deshidratación o eritrocitosis (Messeguer *et al.* 1992).

3.3.3.3. Interpretación de los Índices Eritrocitarios

La importancia de los Índices Eritrocitarios, radica en que con ellos se puede dar una clasificación de la anemia; pero de forma individual, cada índice eritrocitario puede proporcionar algunos tipos de interpretación. Siendo de mayor importancia los índices de Color (C.M.H.C.) y de Tamaño (V.C.M.).

La H.C.M. por lo general no se usa para la clasificación de las anemias, ya que se ve influenciada por el V.C.M. (ej. Si el V.C.M. esta bajo, igual lo estará la H.C.M.); así mismo los factores de C.M.H.C. y H.C.M. son muy similares (Duncan y Prasse 2005).

A. Volumen Corpuscular Medio (V.C.M.)

Indica las variaciones en cuanto al tamaño de los eritrocitos, y estas pueden ser:

- Normocitico: el V.C.M. aparece dentro del rango de referencia.
- Macrocitico: el V.C.M. aparece por encima del rango de referencia.

  - Aumento de la actividad de la medula ósea, asociada a Anemias Regenerativas.
  - Deficiencia de Vit. B_{12} (Cobalamina).
  - Deficiencia de Ácido Fólico.
  - Gatos infectados con FeLV.
  - Perros de raza Greyhounds y Caniches.
  - En perros de raza Schnauzer, por mala absorción intestinal selectiva hereditaria de Vit. B_{12}.

- Microcitico: el V.C.M. aparece por debajo del rango de referencia.

  - Deficiencia de Hierro.
  - Deficiencia de Cobre en algunos animales.
  - Algunas deficiencias de factores hematopoyéticos.
  - Algunas razas de perros sanos (Akita, Chow Chow, Shar Pei, Shiba Inu).

Cuadro 3.4. Causas de Alteración del Volumen Corpuscular Medio (V.C.M.)

Causas de Alteración del V.C.M.	Mecanismo
Aumento del V.C.M.	
Anemia regenerativa	Aumento del número de Reticulocitos circulantes, que son más grandes
Infección con FeLV	Durante la eritropoyesis hay un retraso en la maduración nuclear, con una producción normal de hemoglobina, produciendo un número menor de divisiones celulares antes de la extrusión del núcleo
Macrocitosis familiar en Poodle Toy y Miniatura	También aumento en el número de eritrocitos nucleados y cuerpos de Howell-Jolly. Hallazgo accidental, sin anemia ni signos clínicos
Estomatocitosis hereditaria en los Alaska Malamuten y los Schnauzer	Los Estomacitos son eritrocitos con forma de copa que se forman cuando los eritrocitos captan sodio y agua en exceso. Los Schnauzer son asintomáticos, mientras que los Malamuten tienen condrodisplasia concurrente

Muestras de sangre envejecida (>24 horas)	Hinchazón de los eritrocitos *in vitro*
Disminución del V.C.M.	
Deficiencia de hierro	Durante la eritropoyesis hay una disminución en la síntesis de hemoglobina, por tanto, el núcleo se retiene durante más tiempo. Se producen divisiones celulares extra, produciéndose eritrocitos más pequeños
Enfermedad hepática	La causa no está clara, aunque podría deberse a un metabolismo anormal del hierro. La C.M.H.C. es normal o está ligeramente disminuida; también puede haber una anemia leve
Anemia de la enfermedad inflamatoria crónica	Normalmente es normocitica normocrómica, pero pueden volverse microcitica si permanece durante un periodo de tiempo largo. Probablemente por un metabolismo anormal de hierro
Microcitosis familia de los Akitas	Hallazgo accidental

Fuente: Villiers y Blackwood (2005)

B. Concentración Media de Hemoglobina Corpuscular (C.M.H.C.)

Indica las variaciones en cuanto a la concentración de hemoglobina en los eritrocitos, y estas pueden ser:

- Normocrómica: el C.M.H.C. aparece dentro del rango de referencia.

  - Anemias no regenerativas.
  - Animales sanos.

- Un aumento o disminución del V.C.M., viene acompañado de un aumento o disminución correspondientes en la C.M.H.C., de tal modo que la C.M.H.C. queda dentro del rango de referencia. (Benjamín; 1962)

- Hipocrómica: el C.M.H.C. aparece por debajo del rango de referencia.

  - Reticulocitosis, por lo que estos no tienen completa su carga de hemoglobina.
  - Anemias regenerativas.
  - Deficiencia de hierro.

- La C.M.H.C aparece por encima del rango de referencia.

No hay afección en la cual la C.M.H.C. sobrepase el rango de referencia, puesto que el eritrocito no puede estar sobresaturado de hemoglobina (Benjamín 1962).

Cuadro 3.5. Causas de Alteración de la Concentración Media de Hemoglobina Corpuscular (C.M.H.C.)

Causas de Alteración de la C.M.H.C.	Mecanismo
Aumento de la C.M.H.C.	
Hemolisis intravascular, hemolisis *in vitro*	La hemoglobina de las células se mide junto con la hemoglobina libre; por tanto afectan el cálculo de la C.M.H.C.
Lipemia, numerosos cuerpos de Heinz	Interferencia con la prueba espectrofotométrica de la hemoglobina
Disminución de la C.M.H.C.	
Anemia regenerativa	Aumento del número de Reticulocitos circulantes que tienen menos hemoglobina. No todas las anemias regenerativas tienen C.M.H.C. baja
Deficiencia de hierro	Producción de hemoglobina disminuida
Muestras envejecidas de sangre (>24 horas)	Los eritrocitos se hinchan *in vitro* produciendo un aumento del hematocrito, y la disminución consiguiente de la C.M.H.C.

Fuente: Villiers y Blackwood (2005)

3.3.3.4. Eritrocitosis

La Eritrocitosis está caracterizada por un incremento en el Recuento de Eritrocitos, Hemoglobina y Hematocrito; puede clasificarse como Relativa, o como Absoluta. El término Policitemia, con frecuencia se usa para describir el aumento en el Recuento de Eritrocitos; pero esto implica un aumento de más de una línea celular y no solamente de los eritrocitos, por tanto se desaconseja este término (Villiers y Blackwood 2005).

A. Eritrocitosis Relativa

Es causada por alteraciones en el balance de fluidos que se produce cuando hay deshidratación. La masa total de eritrocitos es normal, pero el volumen de plasma disminuye (Villiers y Blackwood 2005).

- Deshidratación: disminución del volumen plasmático, pero con aumento relativo del valor de Hematocrito, Hemoglobina, Recuento de Eritrocitos y Concentración de Proteínas Plasmáticas:
  - Perdida de agua causada por vómitos, diarrea, diuresis excesiva, privación de agua o deshidratación febril.
  - Perdida interna de fluidos por incremento de la permeabilidad vascular en casos de shock.
  - Perdida de fluidos por efusión de cavidades corporales.

- Redistribución de eritrocitos: frecuente en equinos y felinos:
  - La excitación da lugar a la liberación de epinefrina y contracción esplénica.

B. Eritrocitosis Absoluta

Aumento de la masa total de eritrocitos por incremento de la eritropoyesis. El volumen plasmático y la concentración de proteína plasmática, están dentro del rango de referencia (Duncan y Prasse 2005).

a. Eritrocitosis Absoluta Primaria

Es un trastorno mieloproliferativo de las células madre; la concentración de eritropoyetina está dentro del intervalo normal o disminuida. Ocasionalmente se acompaña de trombocitosis y leucocitosis.

b. Eritrocitosis Absoluta Secundaria

Se produce como respuesta a una secreción elevada de eritropoyetina, que puede ser una respuesta compensatoria apropiada a una hipoxia crónica, debido a: Altitud elevada, Enfermedad pulmonar crónica, Anormalidades cardiacas.

Alternativamente, el aumento en los niveles de eritropoyetina pueden presentarse sin hipoxia sistémica, nombrada de forma incorrecta Eritrocitosis secundaria. Esto se ha descrito junto con tumores renales (carcinoma, adenocarcinoma, fibrosarcoma y linfoma) y se cree que es el resultado de una hipoxia local en el riñon o a una secreción de eritropoyetina por el tumor (Villiers y Blackwood 2005).

- Los animales con Eritrocitosis grave pueden presentar convulsiones a causa del aumento de la viscosidad de la sangre e isquemia del sistema nervioso central.

3.3.3.5. Anemia

La anemia es una disminución absoluta del valor de Hematocrito, Hemoglobina y/o el Recuento de Eritrocitos. La anemia relativa puede darse por el aumento del volumen plasmático (ej. Administración excesiva de fluidos parenterales, gestación, neonatos) (Messeguer *et al*. 1992).

Siempre que sea posible, debe identificarse la causa de la anemia, ya que el término anemia por si solo no constituye un diagnóstico definitivo. Para el diagnóstico definitivo se usan esquemas de clasificación; sin embargo, usar una sola clasificación puede que no sea del todo adecuado. Por tanto se describen 3 tipos de clasificación para la anemia (Duncan y Prasse 2005).

A. Clasificación según el Tamaño (V.C.M.) y la Concentración de Hemoglobina (C.M.H.C.) del Eritrocito

1. El V.C.M. clasifica la anemia en Normocitica si se encuentra dentro del rango de referencia; y Macrocitica o Microcitica, si se encuentra por encima o por debajo del rango de referencia, respectivamente.

2. La C.M.H.C. clasifica las anemias en Normocrómicos, Hipocrómicos o Hipercromicos:

   - Normocrómicos: la concentración de hemoglobina, está dentro del intervalo de referencia.
   - Hipocrómicos: si esta disminuida.

- La Hipercromasia está relacionada más frecuentemente con la hemolisis de los eritrocitos o administración de oxiglobina, ya que los eritrocitos no producen excesos de hemoglobina.
  - ✓ En circunstancias excepcionales, los Esferocitos se asocian con Hipercromasia, a causa de la disminución de Volumen Eritrocitario.

Según Messeguer *et al.* (1992) las Anemias que por clasificadas por el V.C.M. o por la C.H.C.M., se pueden clasificar en forma conjunta, a como sigue:

- Anemias Normociticas y Normocrómicas: se presentan en casos de depresión eritropoyetica, siendo la causa más común de anemia; generalmente indica la presencia de otra u otras enfermedades.

- Anemias Microcíticas e Hipocrómicas: Característica de los estados deficitarios en hierro o imposibilidad de la utilización de hierro, para la correcta síntesis de Hemoglobina; puede aparecer en las perdidas crónicas de sangre. Pueden ir precedidas de Anemias Microcíticas y Normociticas, o Anemias Normociticas e Hipocrómicas.

- Anemias Macrocíticas y Normocrómicas: Asociadas a las deficiencias de Vit. B_{12} y a las carencias de cobalto en Rumiantes. La mayoría de estas Anemias son transitorias y se presentan durante la fase de recuperación de hemorragias o hemolisis.

B. Clasificación en Función de la Respuesta de la Medula Ósea

a. Anemia Regenerativa

La medula ósea responde activamente a la anemia, aumentando la producción de eritrocitos. Entre los hallazgos que pueden indicar regeneración de los eritrocitos tenemos:

- Policromasia.
- Reticulocitos con anisocitosis.
- Macrocitos e hipocromasia, asociado a reticulocitosis.
- Punteado basófilo de los eritrocitos rumiantes.

Las especies capaces de la máxima respuesta reticulocitica son las que tienen la regeneración más intensa. La capacidad de las especies para organizar una respuesta regenerativa, en orden decreciente, es: caninos, felinos, bovino, equino. La regeneración en los equinos, es difícil detectar, porque los Reticulocitos no se liberan a la circulación. Un incremento del V.C.M. puede indicar respuesta regenerativa.

La presencia de regeneración indica, etiología externa a la medula ósea, implicando perdida (ej. hemorragia) o lisis (ej. cuerpos de Heinz, inmunomediada o fragmentación). Algunos ejemplos de Anemia Regenerativa son: Hemolisis, Hemorragia, Regeneración (una vez se ha resuelto la causa de anemia no regenerativa).

b. Anemia No Regenerativa

Indica la ausencia de respuesta eritroide en la medula ósea. La falta de respuesta puede ser debido a que no ha transcurrido el tiempo necesario para la respuesta, y también otras circunstancias como: inflamación crónica, enfermedad renal y desordenes endocrinos. La Policromasia, reticulocitosis y punteado basófilo (rumiantes), están bajos o ausentes.

La anemia puede parecer no regenerativa durante los primeros 2-3 días del inicio de la hemorragia o hemolisis aguda o sobreaguada. En la especie equina al no liberar Reticulocitos a la circulación, todas las anemias parecen no regenerativas.

Las causas de anemia, pueden ser multifactoriales y esto puede afectar la respuesta regenerativa. Algunos ejemplos de Anemia No Regenerativa son: anemia de la enfermedad inflamatoria, fallo renal, anemia por deficiencia de hierro, anemia aplasica, aplasia pura de células rojas y desordenes endocrinos.

C. Clasificación según los Mecanismos Fisiopatológicos Principales

a. Anemia por Pérdida de Sangre

- Hallazgos de Laboratorio en la perdida aguda de sangre:

  - Hematocrito inicialmente puede estar dentro del intervalo de referencia, ya que todos los componentes sanguíneos se pierden en igual proporción.
  - Puede entrar en shock hipovolémico, si pierde más de un tercio del volumen sanguíneo.
  - El recuento de plaquetas, aumenta durante las primeras horas después de la hemorragia; una trombocitosis persistente puede indicar perdidas continuas de sangre.
  - El volumen sanguíneo se reestablece con el aporte de líquido intersticial; pero este movimiento de líquido causa dilución de la masa de eritrocitos y genera signos laboratoriales de anemia (Hematocrito, Recuento de Eritrocitos y Hemoglobina disminuidos).
  - Si se mantiene la reticulocitosis más de 2-3 semanas, se sospecha de sangrados continuos.
  - Aproximadamente 3 horas después de la hemorragia se produce una leucocitosis neutrofilica.
  - También se puede observar hipoproteinemia (disminución en la concentración de proteínas plasmáticas); pero aumenta a los 2-3 días, volviendo a su valor de referencia.
  - Las proteínas plasmáticas se normalizan antes del hematocrito, hemoglobina y recuento de eritrocitos.
  - En el fallo primario de la medula ósea, se puede presentar trombocitopenia y hemorragia posterior; en estos la anemia es no regenerativa.

- Hallazgos de Laboratorio en la perdida crónica de sangre:

  - Respuesta regenerativa, pero generalmente no es tan intensa como en la pérdida de sangre aguda.
  - Trombocitosis persistente.
  - Hipoproteinemia.
  - Con el tiempo puede agotarse los depósitos de hierro y aparecer anemia por deficiencia de hierro, caracterizada por microcitosis e hipocromasia.

- Las Anemia por Hemorragias Externa o Hemorragia Interna se diferencian entre sí, en que las hemorragias externas, impiden la reutilización de componentes como el hierro y la proteína plasmática; mientras que en las hemorragias internas estos componentes se pueden reabsorber y reciclar; también pueden ser menos grave y más marcadamente regenerativa.

Cuadro 3.6. Causas por Perdida de Sangre

Hemorragia Aguda	Hemorragia Crónica	
Ulceras gastrointestinales	Hematuria	
Defectos de hemostasia	Hemofilia	
Intoxicación por helechos	Neoplasia	Tumores gastrointestinales

Coagulación Intravascular Diseminada			Tumores vasculares
Deficiencia de factor X		Parasitismo	Ancilostomosis
Hemofilia A y B			Estrongilosis
Intoxicación por rodenticidas			Coccidiosis
Neoplasia	Hemangiosarcoma Esplénico		Hemoncosis
	Hemangioma Esplénico		Pulgas, Garrapatas, Piojos
Trombocitopenia		Deficiencia de Vitamina K	
Traumatismos		Ulceras gastrointestinales	
Cirugía			

Fuente: Duncan y Prasse (2005)

b. Anemia por Destrucción Acelerada de Eritrocitos

❖ Hallazgos de laboratorio de la anemia hemolítica:

- Recuentos de Reticulocitos más altos en las anemias hemolíticas, que en las anemias hemorrágicas externas.
- Concentración de proteína plasmática dentro de su intervalo de referencia o aumentada (Hiperproteinemia).
- Puede existir leucocitosis neutrofilica y monocitosis.
- Morfología anormal de los eritrocitos, como: cuerpos de Heinz, hematozoarios eritrocitarios, Esferocitos o Poiquilocitosis.

❖ Diferenciación a través de los hallazgos de laboratorio de los diferentes tipos de anemia hemolítica

➢ Hemolisis Extravascular:

Los eritrocitos son secuestrados en el hígado o bazo, donde son fagocitados o lisados procediéndose, en el lugar donde se destruyen, a la catabolización de la hemoglobina.

- Respuesta regenerativa asociada a concentración plasmática normal o aumentada.
- No hay hemoglobinemia, ni hemoglobinuria.
- En los casos de bajo grado de hemolisis, la respuesta de la medula ósea puede compensar la destrucción de eritrocitos; a esta situación se le denomina "anemia hemolítica compensada"
- Neutrofilia, monocitosis y trombocitopenia.
- Aumento de la actividad de los macrófagos y hematopoyesis extramedular, pueden dar lugar a esplenomegalia.
- Morfología anormal de los eritrocitos, como: Esferocitos, Esquistocitos y Queratocitos, indican excesiva fagocitosis de los eritrocitos.

➢ Hemolisis Intravascular:

Los eritrocitos son destruidos en el torrente sanguíneo, liberando hemoglobina al plasma, la cual será eliminada por el hígado o excretada por los riñones.

- Hemoglobinemia es la característica principal, y se detecta por:
  - Alteración cromática rojiza del plasma.

- Aumento de la C.M.H.C. y la H.C.M.
- Hemoglobinuria durante las 12-24 horas posteriores a la hemolisis.
- Morfología anormal de los eritrocitos, como: Esquistocitos, Queratocitos, Cuerpos de Heinz, Excentrocitos.

Cuadro 3.7. Causas de Destrucción Acelerada de Eritrocitos

Hemolisis Intravascular		**Hemolisis Extravascular (fagociticia)**	
Bacterias	*Clostridium hemolyticum*	Hematozoarios de los Eritrocitos	*Anaplasma spp.*
	Cl. novyi		*Mycoplasma spp.*
	Cl. perfringens		
	E. coli (síndrome hemolítico urémico)	Inmunomediada	Anemia hemolítica autoinmune (caninos, felinos)
	Leptospira spp.		Virus de la anemia infecciosa equina
Parásitos de los Gl. Rojos	*Babesia spp.*		*Ehrlichia spp.*
Plantas y productos químicos	Oxidantes: acetaminofén, benzocaína, *Brasicca spp*., deficiencia de cobre, fenotiacina, césped, Vitamina K		Virus de la leucemia felina
	Cefalosporinas		Lupus eritematoso
	Ricino		Hemangiosarcoma
	Venenos de serpiente		Neoplasia hematopoyética
	Zinc		Penicilina
Inmunomediada	Anemia hemolítica autoinmune (equinos, bovinos)		*Sarcocystis spp.*
	Enfermedad hemolítica del neonato (isoeritrolisis neonatal)	Defectos intrínsecos de los eritrocitos	Porfiria eritrocitica
	Transfusiones incompatibles		Estomatocistosis hereditaria
Hipoosmoralidad	Deficiencia de selenio (bovinos)		Deficiencia de piruvato quinasa (caninos)
	Hemoglobinuria fría	Fragmentación	Coagulación Intravascular Diseminada
	Fluidos hipotónicos		Gusanos del corazón (*Dirofilaria*)
	Intoxicación por agua		Vasculitis
Fragmentación	Síndrome de la vena cava	Síndrome hemofagocitico	Hiperesplenismo
Hipofosfatemia	Hiperalimentacion		Histiocistosis maligna
	Hemoglobinuria posparto		
Fallo hepático (equinos)			
Deficiencia de fosfofructoquinasa (caninos)			

Fuente: Duncan y Prasse (2005)

c. Anemia por Eritropoyesis Reducida o Defectuosa

Las causadas por una disminución o defectos de la eritropoyesis son del tipo no regenerativo, y se caracterizan por tener una medula ósea anormal que no puede mantener una eritropoyesis efectiva.

Cuadro 3.8. Causas de Eritropoyesis Reducida o Defectuosa

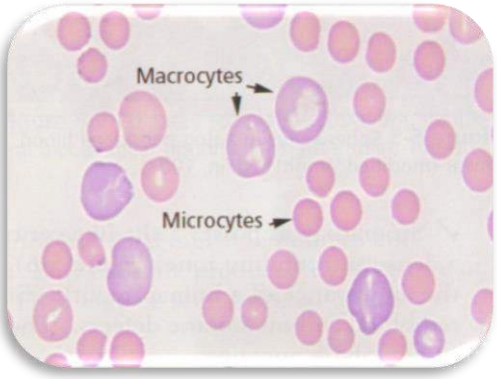
Eritropoyesis Reducida		**Eritropoyesis Defectuosa**	
Anemia por Trastornos Crónicos	Inflamación crónica	Maduración Anormal	Diseritropoyesis Congénita en bovinos Hereford
	Neoplasia		Diseritropoyesis en perros Springer Spaniel Ingles
Daño Citotóxico de la Medula Ósea	Helecho común	Mielosis Eritremica o Eritemia Aguda	Eritroleucemia
	Fármacos Anticancerígenos Citotoxicos		Macrocistosis del perro Caniche
	Estrógenos		Síndrome Mielodisplasico
	Furazolidona	Trastornos de la Síntesis del Hemo	Toxicidad por Cloranfenicol
	Fenilbutasona		Deficiencia de obre
	Radiación		Deficiencia de Hierro
Carencia de Eritropoyesis	Enfermedad Renal Crónica		Envenenamiento por Plomo
	Hipoadrenocorticismo		Deficiencia de Piridoxina
	Hipoandrogenismo	Trastornos de la Síntesis de Ácido Nucleico	Deficiencia o Malabsorción de B_{12}
	Hipopituitarismo		Deficiencia de Ácido Fólico
	Hipotiroidismo		
Inmunomediado	Aplasia Pura de Gl. Rojos		
Infecciones	*Ehrlichia spp.*		
	Virus de la Leucemia Felina		
	Virus de la Panleucopenia Felina		
	Parvovirus		
	Tricostrongilios (Trichuris)		
Mieloptisis	Leucemia Linfocítica		
	Neoplasia Metastatica		
	Mielofibrosis		
	Trastornos Mieloproliferativos		
	Osteopetrosis, Osteoclerosis		

Fuente: Duncan y Prasse (2005)

3.3.3.6. Cambios en el Aspecto y Morfología de los Eritrocitos

La evaluación de los eritrocitos debe incluir la observación del tamaño, color, forma, presencia de eritrocitos inmaduros y de inclusiones en los eritrocitos; entre otros.

Fig. 3.25. Anisocitosis. Tomado de Sink y Feldman (2004)



a. Tamaño

- Anisocitosis: Presencia de eritrocitos de distintos tamaños en una misma muestra.
- Normocitosis: Eritrocitos de tamaño normal según la especie animal de la que se trate.
- Macrocitosis: Eritrocitos de tamaño superior al normal según la especie animal de la que se trate.
  - Macrocitos Normocromicos: en Macrocitosis de los Caniches, Infecciones por FeLV, Preleucemia en caninos y felinos, Aplasia Eritroide de los felinos, Deficiencia de Vit. B_{12} de los Schnauzer.
  - Asociado al incremento de V.C.M.
- Microcitosis: Eritrocitos de tamaño inferior al normal según la especie animal de la que se trate.
  - Se pueden observar en anemias por Deficiencia de Hierro y por Deficiencia de Piridoxina; también se asocian a la Anastomosis Portosistémica y la Hiponatremia.
  - Asociado a la disminución de V.C.M.
  - Microcitos en perros sanos de algunas razas asiáticas como Akita, Chow Chow, Shar Pei, Shiba Inu.

Color

- Anisocromia: Aparición de eritrocitos con distintas coloraciones en una misma preparación.
  - Frecuente en los casos de anemia.
- Hipocromía: Los eritrocitos aparecen menos teñidos, de lo normal.
  - Suele asociarse con microcitosis.
  - Deficiencia de Hierro, y también Intoxicación por Plomo.
- Policromasia: Alteración de la afinidad de los eritrocitos por las soluciones colorantes, con disminución de su carácter acidofilo y una mayor apetencia por los colorantes basófilo.
  - Esto origina una función anormal de los mismos, se relaciona con gran actividad medular y debe considerarse como un signo de regeneración hemática.

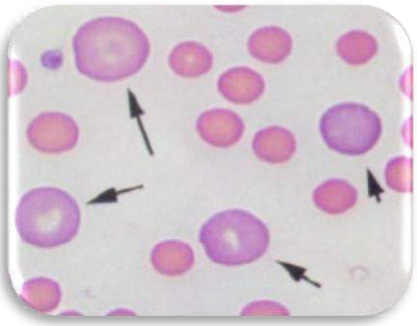
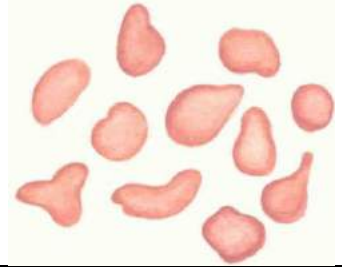
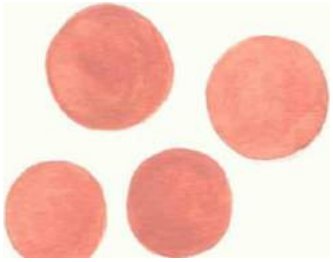
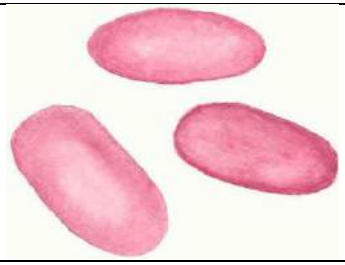
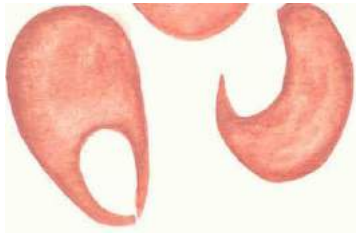
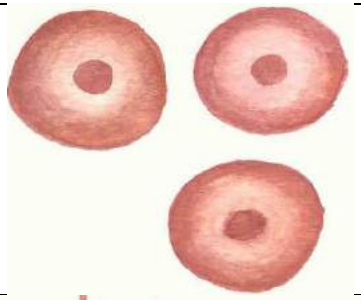
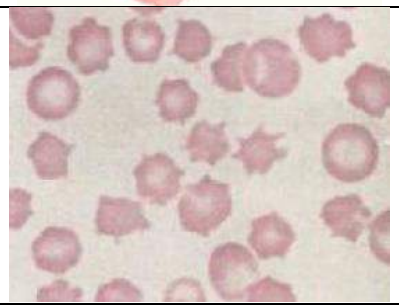
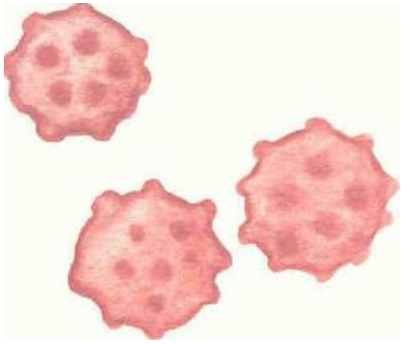
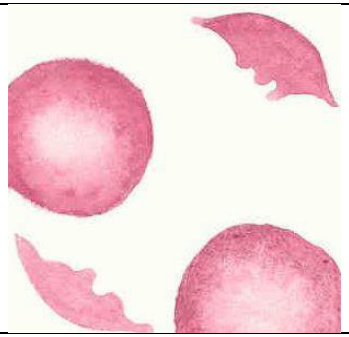
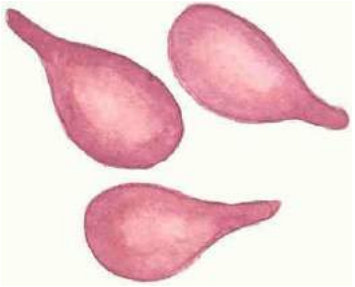


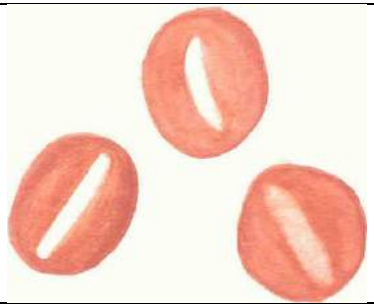
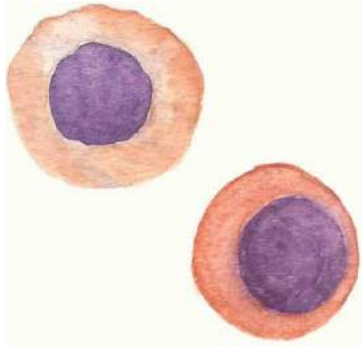
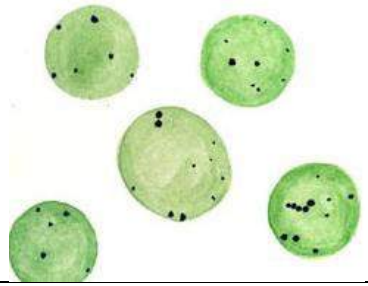
Fig. 3.26. Policromasia. Tomado de Sink y Feldman (2004)

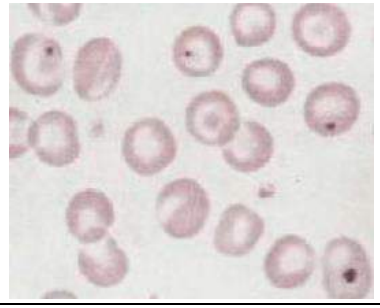
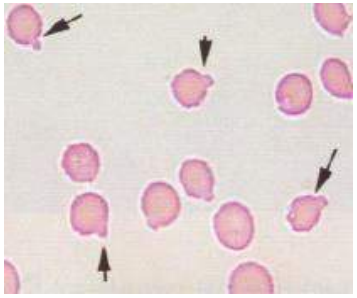
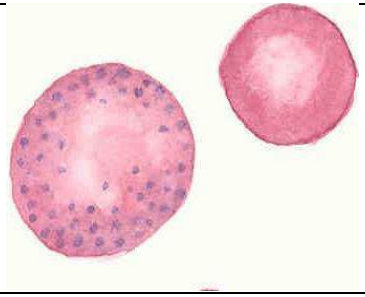
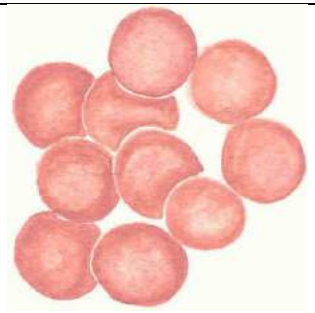
Cuadro 3.9. Variaciones Morfológicas de los Eritrocitos y sus Causas

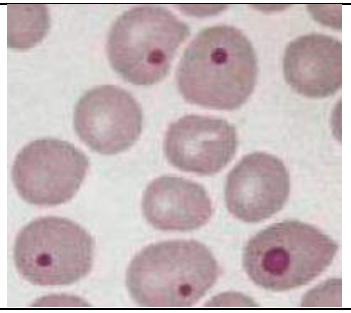
Anormalidad	Imagen	Características/Morfología	Causas
Forma			
Poiquilocitosis		presencia de eritrocitos de diferentes formas en una misma preparación	• Con frecuencia aparecen en los porcinos, caprinos y terneros jóvenes • Se presenta en relación con procesos anémicos • Se eliminan prematuramente de la circulación, provocando anemia hemolítica
Excentrocitos		Eritrocitos con la hemoglobina condensada en una parte de la célula, dejando el resto vacía o con aspecto de ampolla	• Consecuencia de daños oxidativos con peroxidación de los lípidos y entrecruzamiento de la membrana celular • Agentes oxidantes (cebolla, acetaminofén, vitamina K)
Esferocitos		Son globulares o redondos, con una cantidad normal de hemoglobina; pero debido a que no quedan bien extendidos parecen más pequeños que los eritrocitos normales	• Anemias hemolíticas inmunomediadas, después de transfusiones y algunas fases de la anemia de Cuerpo de Heinz, picaduras de serpientes, intoxicación con Zinc, diseritropoyesis familiar • Hematozoarios eritrocitarios, bovinos afectados por *Anaplasma sp.*
Ovalocitos (Eliptocitos)		Eritrocitos de forma ovalada	• Enfermedad hereditaria por deficiencia de la proteína 4.1 de la membrana del citoesqueleto eritrocitario • Deficiencia de hierro, desordenes mieloproliferativos, leucemia linfocítica aguda, glomerulonefritis

Queratocitos (Células casco)		Son eritrocitos con 1-2 proyecciones que se forman de una vesícula herniana	• Suele derivar de daños oxidativos de la membrana eritrocitaria, formando parte de los Cuerpos de Heinz • Deficiencia de hierro, enfermedad hepática, toxicidad por doxorrubicina, síndromes mielodisplasicos, almacenamiento de sangre tratada con EDTA
Células Dianas (Codocitos)		Eritrocitos con una zona central redondeada de material pigmentado, rodeada por una zona clara sin pigmento y con un anillo denso de citoplasma cerca de la periferia del eritrocito	Puede asociarse con enfermedad hepática y deficiencia de hierro, anemias regenerativa, diseritropoyesis congénita en perros
Hematíes Crenados		Tienen forma estrellada	Carecen de significancia clínica y aparecen como consecuencia de un retraso en el secado de la preparación o el empleo de sol. hipertónicas durante la tinción
Acantocitos		Eritrocitos que presentan espículados con 2 o más proyecciones irregulares y normalmente redondeadas	• Asociado a Hemangiosarcoma (sobre todo si afecta el hígado), glomerulonefritis, linfoma, enfermedades hepáticas, hipercolesterolemia, coagulación intravascular diseminada

Equinocitos		Eritrocitos especulados, con muchas proyecciones uniformes y regularmente separadas • Equinocitos de tipo I: espículas en la periferia del eritrocitos • Equinocitos de tipo II y III: tienen espículas en toda la superficie del eritrocito	• Con frecuencia en rumiantes • Equinocitos de tipo I: asociados a cambios de temperatura, pH, secado, deficiente técnica en la preparación del frotis, sobredosificación de EDTA, almacenamiento prolongado de la muestra de sangre • Equinocitos de tipo II y III: se han detectado en casos de uremia, reducción de electrolitos, linfoma, toxicidad por doxorrubicina y glomerulonefritis
Esquistocitos		Fragmentos eritrocitarios irregulares, como resultado de las tensiones de soportadas en la circulación y con fibrina intravascular y los flujos de sangre turbulentos	Se asocia a coagulación intravascular diseminada (CID), deficiencia de hierro, hemangiosarcoma, glomerulonefritis, fallo cardiaco congestivo, enfermedad hepática, mielofibrosis, toxicidad crónica por doxorrubicina y vasculitis
Dacriocitos		De forma piriforme, aparecen por incapacidad del eritrocito para recuperar su forma después de haberse deformado en los vasos sanguíneos	• Relacionado a alteraciones en las proteínas del citoesqueleto del eritrocito • Si las colas están orientados hacia una misma dirección, probablemente sea debido a artefactos en la preparación del frotis • Desordenes mieloproliferativos, glomerulonefritis, hiperesplenismo, deficiencia de hierro en rumiantes

Estomacitos		eritrocitos deformes en los que existe una zona lineal de palidez central	• Se encuentra en la estomatocitosis hereditaria de los Alaskan Malamutes, Drentse Partrijshond y Schnauzers Miniatura • Incremento en el contenido de agua de los eritrocitos
Aparición de Hematíes Inmaduros			
Eritrocitos Nucleados		Formas inmaduras que representan los primeros estadios de desarrollo de los eritrocitos; son células con un núcleo muy grande y color purpura (Metarrubricitos, Rubicitos, estados iniciales de desarrollo eritrocitario)	• Se puede observar en números elevados en cerdos sanos, especialmente lechones de menos de 3 semanas de edad • Respuesta apropiada: anemias altamente regenerativas, con intensa hiperplasia eritroide, se acompaña de reticulocitosis • Respuesta inapropiada: intoxicación por plomo, deficiencia de hierro, deficiencia de cobre, Hemangiosarcoma, hematopoyesis extramedular, mieloptisis, síndrome del disco intervertebral, macrocitosis hereditaria del Caniche, endotoxemia, traumatismo de la medula ósea, necrosis de la medula ósea, metástasis neoplásicas de la cavidad de la medula ósea, mielofibrosis, infección por FeLV, síndrome mielodisplastico y leucemia
Reticulocitos		Contienen restos de ARN, en forma de retículo o red, y aparecen de forma normal en escasa proporción en sangre periférica	Se ven aumentadas en las fases regenerativas de las anemias

Presencia de Inclusiones en los Hematíes			
Cuerpos de Howell-Jolly		Restos nucleares en forma de gránulos de color violeta oscuro en el interior de los eritrocitos, con localización excéntrica	• Se encuentran en 1% de los eritrocitos felinos • Su aparición en gran número indica intensa actividad eritropoyetica acelerada, y suele acompañar a las anemias hemolíticas y hemorrágicas • Después de una esplenectomia • Tratamiento con glucocorticoides
Cuerpos de Heinz		Restos de hemoglobina desnaturalizada, de forma redondeada que sobresale en la membrana del eritrocito; o también puede parecer un pequeño cuerpo refractario en el citoplasma	• Hasta un 10% de los eritrocitos felinos pueden contener Cuerpos de Heinz (cuerpo refractarios eritrocitarios) • Pueden causar hemolisis intravascular, hipertiroidismo, linfoma, consumo de cebolla, intoxicación por zinc, deficiencia de selenio, acetaminofén, fenotiacina, vitamina K
Punteado Basófilo		Agregaciones de ARN residual	• En ovejas y bovinos anémicos, ocasionalmente en la anemia felina • En anemias regenerativas, y puede ser una respuesta adecuada durante la anemia • Puede ser indicador de toxicidad por plomo, si se acompaña de metarrubricitosis
Otros			
Aglutinación		Agregación de eritrocitos en forma de racimos de uvas	• Anemias inmunomediadas (mediadas por anticuerpos) • Tratamientos con heparina

Formación en Pilas de Monedas (Rouleaux)		Son agrupaciones eritrocitarias que se asemejan a pilas de monedas	• En equinos gravemente anémicos o caquéxicos pueden no observarse • En caninos y felinos con enfermedades inflamatorias y neoplásicas, se puede ver una marcada presencia de pilas de monedas • Procesos inflamatorios, enfermedades linfoproliferativas
Inclusiones del Moquillo		En los eritrocitos caninos, son irregulares, redondos o con forma de anillo; y se tiñen magenta con tinciones de Romanowsky	

Fuente: Messeguer *et al*. (1992), Reagan (1999) y Jardon (2003)

3.4. SERIE BLANCA

3.4.1. Generalidades

La función principal del sistema leucocitario es la de defender al organismo de lo que es ajeno; no obstante, cada uno de los leucocitos tiene funciones diferentes y cada uno se comporta como un sistema independiente, aunque relacionado con los demás. La defensa del organismo, se lleva a cabo mediante 2 mecanismos generales; la fagocitosis de substancias a las que se les identifica como ajenas y el desarrollo de una reacción inmunitaria en contra de ellas (Jardon 2003).

La Leucopoyesis es la producción de las células blancas o leucocitos, todos los leucocitos son producidos siguiendo una secuencia ordenada; pero cada uno de ellos sigue un desarrollo distinto, como son:

- Granulopoyesis: involucra la producción de Neutrófilos, Eosinofilos y Basófilos, en un proceso ordenado, a partir de una célula precursora común conocida como Mieloblasto.

- Monocitopoyesis: involucra la producción de Monocitos, que derivan de la Célula Progenitora Pluripotencial en la medula ósea; permaneciendo poco tiempo en la circulación y emigran al azar a varios tejidos y cavidades corporales, transformándose posteriormente en Macrófagos.

- Linfopoyesis: involucra la producción de Linfocitos, la cual es estimulada por exposición antigénica y es deprimida por los corticoesteroides, hormonas sexuales o por desnutrición.

3.4.1.1. Granulopoyesis

En la medula ósea existen 3 tipos de granulocitos, que incluyen las células de las líneas de Neutrófilos, Eosinofilos y Basófilos; siendo la línea de los neutrófilos el tipo predominante de granulocitos. El primer precursor de granulocito es el Mieloblasto, el cual se divide para formar 2 Promielocitos, para luego dividirse y producir un Mielocito cada uno; el Mielocito Neutrófilo sufre 2 divisiones y la progenie resultante madura y se transforma en Metamielocitos Neutrófilos, estos luego se transforman en Neutrófilos En Banda, el cual madurara hasta convertirse en Neutrófilo Segmentado (Reagan 1999).

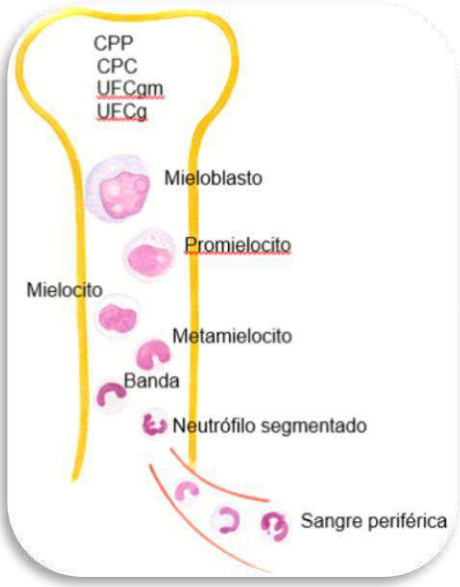


Fig. 3.27. Neutropoyesis. Tomado de Jardon (2003)

- **Descripción Morfológica de las Fases que Componen la Granulopoyesis Neutrofilica, según Reagan (1999), Jardon (2003) y Villiers y Blackwood (2005):**

A. **Mieloblastos:** célula grande con núcleo redondo o ligeramente oval, con cromatina punteada sin condensaciones y uno o más nucléolos prominentes. La cantidad de citoplasma es pequeña o moderada y de color azul, desprovisto de gránulos azurofilicos.

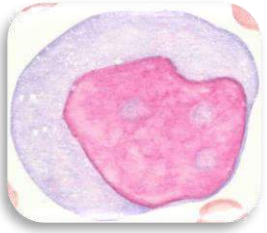


Fig. 3.28. Mieloblasto. Tomado de Jardon (2003)

B. Promielocitos: a menudo más grandes que los mieloblastos y se parecen a estos con la excepción en que pueden no tener nucléolos, pueden tener un zona perinuclear clara dentro del citoplasma. Su rasgo característico es la presencia de multiples gránulos muy pequeños de color rosado o purpureo en el citoplasma, y se les conoce como gránulos primarios.

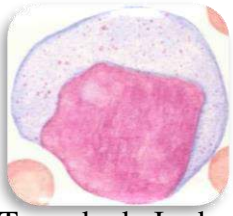


Fig. 3.29. Promielocito. Tomado de Jardon (2003)

C. Mielocito: más pequeño que los primeros precursores y tiene un núcleo redondo u oval y ligeramente dentado, usualmente excéntrico, con una cromatina granular de fina a moderada y tiene cantidades moderadas de citoplasma azul. Dejan de producirse los gránulos primarios y se forman los gránulos secundarios, los cuales son más grandes que los primarios, de color rosa claro, los cuales son muy difíciles de reconocer con el microscopio óptico.

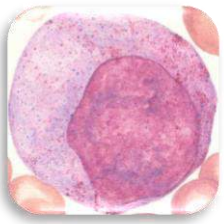


Fig. 3.30. Mielocito. Tomado de Jardon (2003)

D. Metamielocito Neutrófilo: es más pequeño que el mielocito y tiene un núcleo con forma de riñón, la cromatina es moderadamente condensada, siendo más espesa y densa que la del mielocito. Citoplasma es de color azul y contiene gránulos secundarios, los cuales están también en las etapas subsiguientes y no son fácilmente visibles al microscopio.

Fig. 3.31. Metamielocito Neutrófilo. Tomado de Jardon (2003)

E. Neutrófilo En Banda: son redondos y más pequeños que los metamielocitos, con núcleo en forma de U o de herradura, con los lados paralelos, con una anchura constante y pueden encontrarse ligeras indentaciones menores al 50% de la anchura del núcleo; cantidades moderadas de citoplasma azul o azul claro, con cromatina nuclear condensada.

Fig. 3.32. Neutrófilo en Banda. Tomado de Jardon (2003)

F. Neutrófilo Segmentado: de 10-12µ de diámetro, con un citoplasma que va del azul claro al rosáceo, y un núcleo segmentado con unos 3-5 lóbulos dependiendo la edad de la célula, de color violeta, cromatina nuclear condensada y lóbulos nucleares unidos por filamentos delgados de cromatina; los gránulos citoplasmáticos no se tiñen. Los neutrófilos de las diferentes especies domesticas son similares, con excepción de los neutrófilos bovinos que se tienen de un rosa más intenso.

Fig. 3.33. Neutrófilo Segmentado - Caninos. Tomado de Reagan (1999)

Fig. 3.34. Neutrófilo Segmentado - Felinos. Tomado de Reagan (1999)

Fig. 3.35. Neutrófilo Segmentado - Equinos. Tomado de Reagan (1999)

Fig. 3.36. Neutrófilo Segmentado - Bovinos. Tomado de Reagan (1999)

Los Eosinofilos y Basófilos maduros, así como también sus precursores, aparecen en poca cantidad en la medula ósea normal. La producción de dicha células es similar a la de los Neutrófilos, y un desarrollo idéntico hasta la fase de Mielocito; posteriormente continúan desarrollándose hasta los Eosinofilos y Basófilos En Banda y así hasta la última fase de desarrollo, como Eosinofilo y Basófilo Maduro (Reagan 1999).

Fig. 3.37. Eosinopoyesis. Tomado de Jardon (2003)

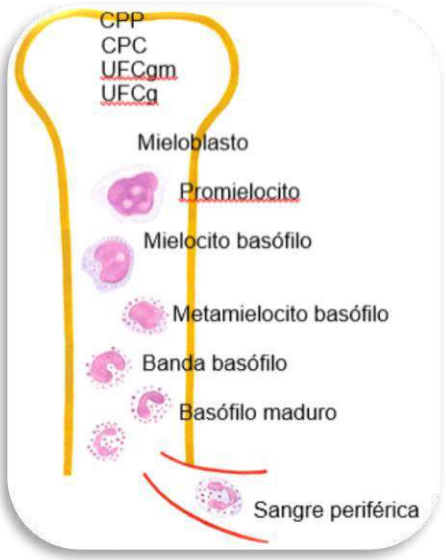


Fig. 3.38. Basofilopoyesis. Tomado de Jardon (2003)

Morfológicamente hablando son idénticos hasta la fase de los Mielocitos, donde los Mielocitos Eosinofilos y Basófilos se distinguen de los Mielocitos Neutrófilos por el color de sus gránulos secundarios; donde los Mielocitos Eosinofilos y Basófilos contienen, respectivamente, gránulos secundarios de color rojizo a rojizo-anaranjado, y purpureo. Los Eosinofilos y Basófilos en Banda, pueden reconocerse por la presencia única de gránulos secundarios. Ambas células con 10 a 15µ de diámetro (Reagan 1999).

- **Eosinofilos:** es ligeramente más grande que el neutrófilo maduro, núcleo segmentado pero no de manera tan estrecha, con solo 2-3 lóbulos, de color violáceo; el citoplasma basofilico contiene gránulos redondeados, prominentes y de color rojizo a rojizo-anaranjado.
  - ✓ Caninos: son redondos y muy variables en tamaño y numero.
  - ✓ Felinos: forma de bacilo y normalmente llenan el citoplasma.
  - ✓ Equinos: grandes gránulos redondos, ovales u oblongos que llenan el citoplasma y a veces enmascaran el núcleo.
  - ✓ Rumiantes: pequeños gránulos redondos, completamente uniformes que normalmente llenan el citoplasma.

Fig. 3.39. Morfología de las Diferentes Etapas de Maduración de los Eosinofilos. Tomado de Harvey (2001)

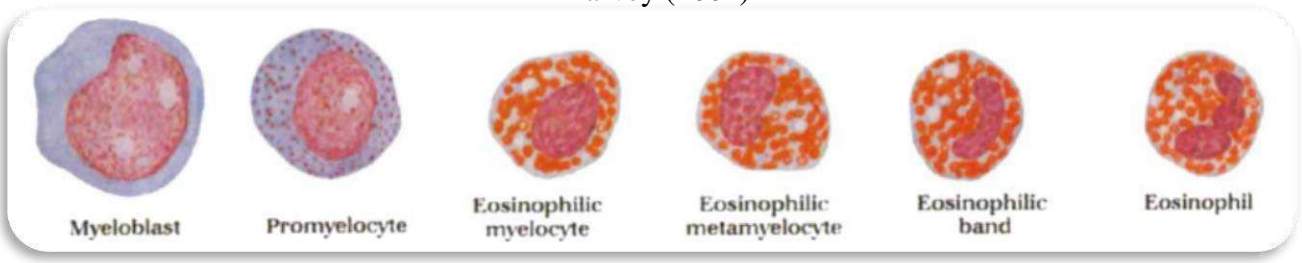


Fig. 3.40. Eosinofilo – Caninos. Tomado de Reagan (1999)

Fig. 3.41. Eosinofilo – Felinos. Tomado de Reagan (1999)

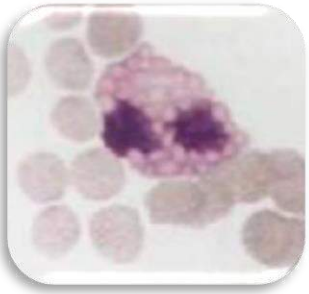


Fig. 3.42. Eosinofilo – Equinos. Tomado de Reagan (1999)

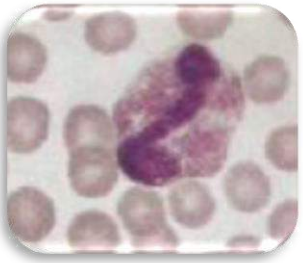


Fig. 3.43. Eosinofilo – Bovinos. Tomado de Reagan (1999)

- **Basófilos:** células redondas que son ligeramente más grandes que los neutrófilos, con un núcleo segmentado, elongado y en forma de cinta con cromatina condensada; el citoplasma es de color purpura claro con gránulos de color rojo violeta intenso o azul intenso, que pueden ocupar el citoplasma casi por completo y ocultan el núcleo.
  - ✓ Caninos: redondos, de color purpura oscuro y en menor cantidad; pero más grandes en comparación con otras especies.
  - ✓ Felinos: pequeños casi imperceptibles, redondos y de un azul lavanda.
  - ✓ Bovinos y Equinos: varios gránulos pequeños bien teñidos de color purpura, y con mayor frecuencia se encuentran en los equinos.

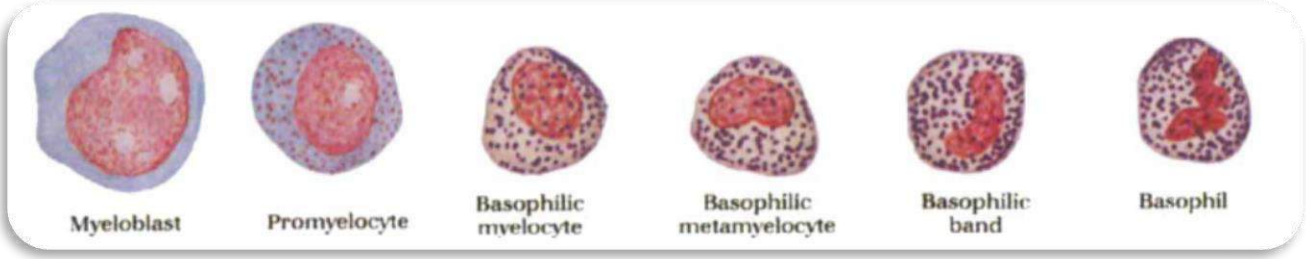


Fig. 3.44. Morfología de las Diferentes Etapas de Maduración de los Basófilos. Tomado de Harvey (2001)

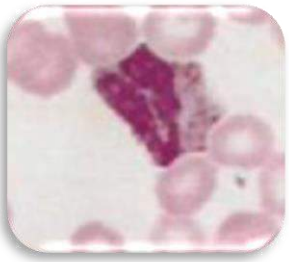


Fig. 3.45. Basófilo – Caninos.
Tomado de Reagan (1999)

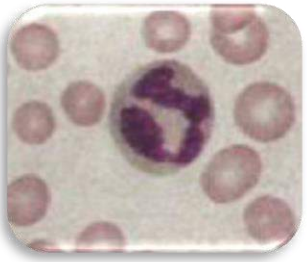


Fig. 3.46. Basófilo – Felinos.
Tomado de Reagan (1999)

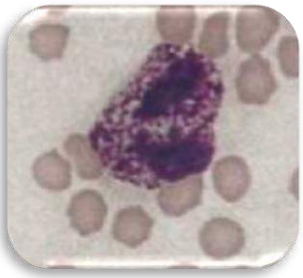


Fig. 3.47. Basófilo – Equinos.
Tomado de Reagan (1999)

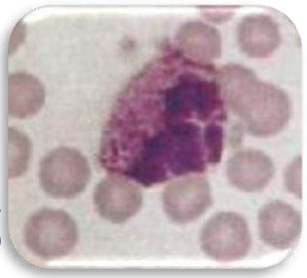
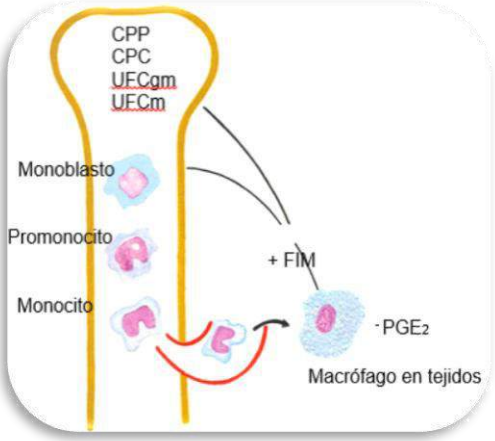


Fig. 3.48. Basófilo – Bovinos.
Tomado de Reagan (1999)

Fig. 3.49. Monocitopoyesis. Tomado de Jardon (2003)

3.4.1.2. Monocitopoyesis

Los precursores de los monocitos surgen de las células madres, que son precursores comunes para ambas células de las líneas de los granulocitos y monocitos. Los Monoblastos son los primeros precursores, los cuales dan lugar a los Promonocitos; los Promonocitos dan origen a los Monocitos (Reagan 1999).



❖ **Descripción Morfológica de las Fases que Componen la Monocitopoyesis, según Reagan (1999) y Villiers y Blackwood (2005):**

A. **Monoblastos:** prácticamente imposible de diferenciar de los mieloblastos.

B. **Promonocitos:** es una célula grande con núcleo oval, a veces dentado con un tipo de cromatina reticular o en forma de encaje; con cantidades pequeñas y moderadas de citoplasma azul y puede resultar difícil distinguirlas de los mielocitos o metamielocitos neutrófilos.

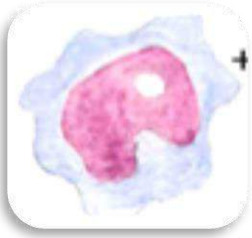


Fig. 3.50. Promonocitos.
Tomado de Jardon (2003)

C. **Monocitos:** son los leucocitos más grandes con unos 15-20µ de diámetro; con un citoplasma moderado a abundante en cuanto a cantidad y de color azul cielo o azul-gris, en el que a menudo, pueden diferenciarse multiples vacuolas transparentes, y algunas veces gránulos parecidos a polvo, finos y de color rosado. La forma del núcleo es muy variable, que puede ser redondo, en forma de riñón-haba, lobulado, en forma de U o en forma de S; y la cromatina nuclear tiene áreas de condensación pero tiene forma de encaje o reticular. Son muy similares en todas las especies domésticas.

Fig. 3.51. Monocito – Caninos.
Tomado de Reagan (1999)

Fig. 3.52. Monocito – Felinos.
Tomado de Reagan (1999)

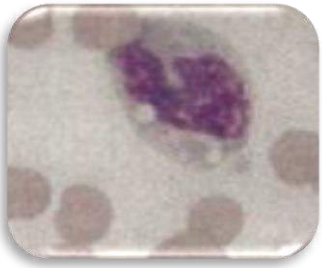


Fig. 3.53. Monocito – Equinos.
Tomado de Reagan (1999)

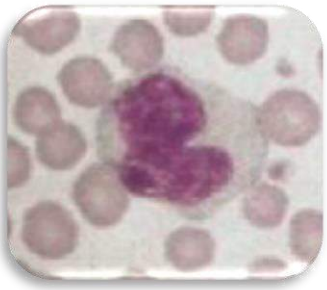


Fig. 3.54. Monocito – Bovinos.
Tomado de Reagan (1999)

Los monocitos con el núcleo en forma de U pueden ser difíciles de distinguir de los neutrófilos en banda, especialmente a los que muestran cambios tóxicos; pero existen diferencias que pueden permiten la identificación, como se muestra en el "Cuadro 2.10".

3.4.1.3. Linfopoyesis

Los linfocitos surgen del mismo precursor de célula madre común, como lo hacen el resto de otras células de la medula ósea. Las multiples fases de diferenciación de linfocitos en la medula ósea no pueden reconocerse microscópicamente, pero existen 2 tipos principales de linfocitos presentes en la sangre periférica: Linfocitos B y T; estos 2 tipos de células, parecen idénticas y no pueden diferenciarse únicamente por su morfología, siendo sus funciones completamente diferentes (Reagan 1999).

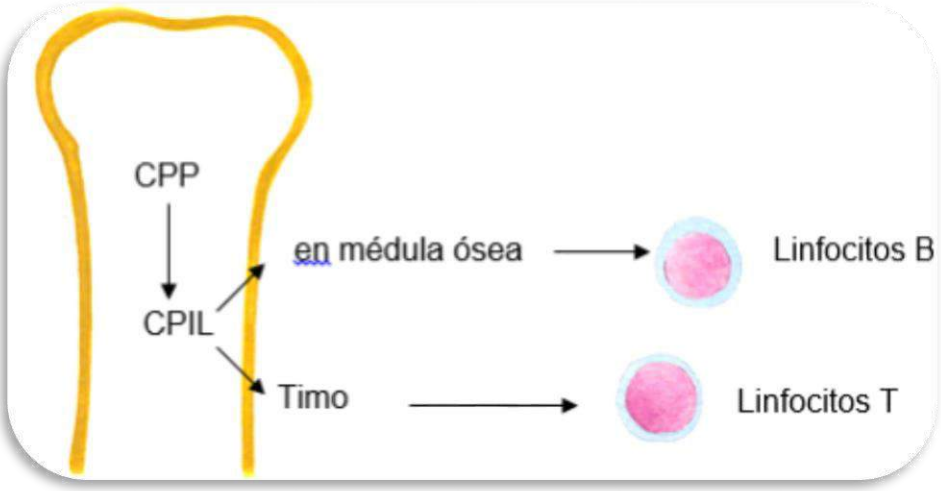


Fig. 3.55. Linfopoyesis.
Tomado de Jardon (2003)

Fig. 3.56. Linfocito.
Tomado de Jardon (2003)

Los Linfocitos poseen un núcleo redondo con la cromatina condensada y manchada, que se tiñe de color violeta muy intenso y está rodeado por una corona de citoplasma basofilico (azul pálido) (Messeguer *et al.* 1992).

Según Villiers y Blackwood (2005) los linfocitos pueden variar mucho de tamaño, y van desde 6-18µ de diámetro, cuya descripción puede ser como a continuación sigue:

A. Linfocitos Pequeños: son los predominantes, siendo un poco más grandes que los eritrocitos y que tienen un citoplasma muy escaso, que apenas es visible alrededor del núcleo.

B. Linfocitos Medianos: de tamaño similar al de los neutrófilos y tienen un citoplasma más abundante, que normalmente rodea al núcleo.

C. Linfocitos Grandes (Linfocitos Reactivos): con un núcleo aproximadamente 1,5 más grande que el diámetro de un eritrocito, con abundante citoplasma muy basofilico, con una tinción oscura en la periferia.

- ✓ Hay los llamados Linfocitos Granulares Grandes, que son linfocitos con muchos gránulos rojo magenta/rosas situados en un lado del núcleo,

3.4.1.4. Problemas En La Identificación De Las Células

Según Medway *et al*. (1973) existen ciertos problemas en la identificación de ciertos tipos de células sanguíneas, y propone una solución aportando pautas para su diferenciación:

A. Diferenciación entre Eritrocitos Nucleados y los pequeños Linfocitos

Si el citoplasma se tiñe algo de color anaranjado, la célula es un Eritrocito Nucleado, que tiene una banda de citoplasma alrededor del núcleo; mientras que el Linfocito solo tiene un ribete de citoplasma. El Metarrubricito tiene un núcleo uniformemente picnótico diferente de los cúmulos de cromatina que se ven en el Linfocito. El núcleo del Rubricito no es tan denso, pero su citoplasma es basófilo en mayor grado.

B. Diferenciación entre los grandes Linfocitos y los Monocitos

El núcleo de los grandes Linfocitos tiene una redondez bastante uniforme y se tiñe con uniformidad; el citoplasma se tiñe de azul pálido, vítreo, transparente. La irregularidad del contorno nuclear, forma de habichuela y cordones de cromatina caracterizan el núcleo del Monocito; el citoplasma se tiñe de azul gris mate y puede tener vacuolas.

C. Diferenciación entre el Metamielocito Neutrófilo y el Monocito

La presencia de gran número de formas en Banda, anuncia la posible presencia de Metamielocitos; estos suelen mostrar basofilia del citoplasma en los estados tóxicos. Los Metamielocitos mostraran el núcleo de forma arriñonada semejante a la habichuela, lo mismo que el Monocito.

Cuadro 3.10. Factores que Diferencian Monocitos con el Núcleo en Forma de U de los Neutrófilos en Banda

Monocitos con el Núcleo en Forma de U	Neutrófilos en Banda
Núcleo más ancho y más grande con los extremos en forma de pomo	Núcleo más estrecho
Cromatina abierta, punteada	Cromatina densa, condensada

Citoplasma azul cielo, muy basofilico	• Citoplasma de un gris claro • Los Neutrófilos Tóxicos pueden tener el citoplasma ligeramente basofilico, pero no tan oscuro como el de los Monocitos
El citoplasma suele contener vacuolas aisladas y algunas veces contiene gránulos finos, rosados, como polvo	• Citoplasma no vacuolado • Los Banda Tóxicos pueden tener el citoplasma espumoso (sin vacuolas asiladas) y contienen gránulos distinguibles

Fuente: Villiers y Blackwood (2005)

3.4.2. Evaluación Laboratorial de los Leucocitos

3.4.2.1. Conteo Leucocitario

El recuento de glóbulos blancos nos informa del número de leucocitos por mm^3 de sangre.

❖ **Materiales**

- ✓ Microscopio
- ✓ Cámara de Neubauer Modificada
- ✓ Solución de Turk
- ✓ Método A:
  - o Pipeta de Thomas para Glóbulos Blancos
- ✓ Método B:
  - o Pipetas Automáticas (1 de 10/100 y 1 de 100/1,000)
  - o Puntas para los 2 tipos de Pipetas Automáticas

♣ **Solución de Turk** según Messeguer *et al.* (1992)

- Ácido Acético Glacial: 3 ml
- Sol. Alcohólica de Violeta de Genciana 1%: 2.5 ml
- Agua Destilada: 300 ml

Fig. 3.57. Pipeta de Thomas para Glóbulos Blancos

❖ **Procedimiento**

A. Uso de Pipetas de Thomas

1. Se trabaja con una dilución de sangre 1:20, para lo cual se toma sangre hasta la marca 0,5 y de Sol. de Turk hasta la marca 11 de la Pipeta de Thomas para Glóbulos Blancos.
   - ✓ Limpiar la punta de la pipeta después de aspirar cada líquido; así como también, evitar la formación de burbujas.
2. Agitar vigorosamente la pipeta, en posición horizontal, ocluyendo ambos extremos, durante al menos 2 minutos.
3. Se coloca el cubre sobre las 2 superficies laterales de la Cámara de Neubauer y procurando que quede adherido a la cámara.
4. Se procede al llenado, descartando las primeras 2-3 gotas; tras ello secamos la punta de la pipeta y se coloca la pipeta en un ángulo de 45º grados, controlando la salida de líquido, dejando que el líquido llene el espacio entre el cubre y la cámara, por capilaridad del líquido.

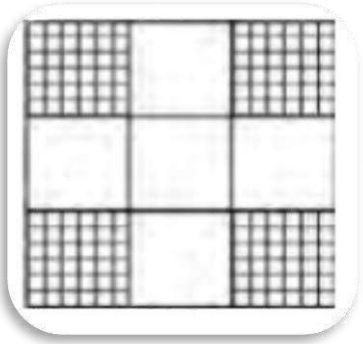
5. Se llevara la cámara al microscopio y se esperara de 2-3 minutos para que se produzca la sedimentación de las células y llevar a cabo el conteo.

B. Uso de Pipetas Automáticas o Micropipetas

1. Se trabaja con una dilución de 1:20; en un tubo de ensayo de 3 ml, se descargaran 380µl de Sol. de Turk usando la Pipeta de 100/1,000, posteriormente se adicionan 20µl de sangre usando la Pipeta de 10/100.
2. Agitar vigorosamente el tubo de ensayo, tapando el extremo; durante al menos 2 minutos
3. Se coloca el cubre sobre las 2 superficies laterales de la Cámara de Neubauer, procurando que quede adherido a la cámara.
4. Se procede al llenado, colocando la Pipeta en un ángulo de 45º grados y depositando 10µl aproximadamente, dejando que el líquido llene el espacio entre el cubre y la cámara, por capilaridad del líquido.
5. Se llevara la cámara al microscopio y se esperara de 2-3 minutos para que se produzca la sedimentación de las células y llevar a cabo el conteo.

❖ **Lectura**

Fig. 3.58. Área de Conteo de los Leucocitos. Tomado de Núñez y Bouda (2007)



1. Se lee a objetivo 10x.
2. Se lee 4 cuadrantes, que se hayan ubicados 1 en cada esquina del Retículo (A, B, C, D), y estos a su vez están divididos en 16 cuadriculas; estos son en los que se realizara el recuento de Leucocitos.
3. Se examinan en un orden fijo, comenzando por el extremo superior izquierdo y siguiendo una trayectoria en zig/zag hasta haber contado todas las células contenidas en las 16 cuadriculas, repitiendo la misma operación en los otros 3 cuadrantes a contar del Retículo.

- Hay células que caen sobre los bordes limitantes, por esto razón se recomienda contar sistemáticamente las células que caigan sobre 2 de los bordes (superior y derecho), despreciando las que caigan sobre los otros 2 bordes (inferior e izquierdo).

❖ **Calculo**

A. Según Messeguer *et al.* (1992)

➢ Nº de Leucocitos / mm^3 de sangre = F*D*S*A

- **F** - Cifra Fundamental = Es el promedio de Leucocitos en cada cuadricula fundamental. Se calcula, dividiendo el total de Leucocitos contados, entre las 64 cuadriculas sobre las que se ha realizado el contaje (N/64).

- **D** – Inverso de la Dilución empleada = como se trabajó a dilución de 1:20, multiplicaremos por 20.

- **S** – Inverso de la Superficie de cada una de las Cuadriculas Fundamentales = en este caso 1/16 mm^2, dando 16 que será con lo que se trabajara.

- **A** – Inverso de la Altura existente entre el Retículo de la Cámara y el Cubre = dicha altura es de 1/10 mm, dando 10 que será con lo que se trabajara.

- La fórmula final queda pues como sigue:

  - Numero de Leucocitos / mm^3 de sangre = N/64 * 20 * 16 * 10

B. Según Coffin (1952)

- GB = Σ (A+B+C+D) * 50
- GB = Σ (A+B+C+D) * 50 ÷ 1,000

3.4.2.2. Recuento Diferencial de Leucocitos

Para esto es imprescindible realizar una extensión y tinción de la sangre problema, con objeto de estudiar e identificar las características particulares de cada una de las células sanguíneas. Este recuento diferencial, nos permite conocer los valores relativos de los distintos tipos leucocitarios que existen en la sangre a examinar.

Según Benjamín (1962), existen ciertas particulares con respecto a los Valores Relativos y los Valores Absolutos de los Leucocitos, y estas pueden ser:

- Los valores relativos a menudo inducen a error, ya que un porcentaje de un cierto tipo de células pudiera ser debido a:
  - aumento real del número de células de ese tipo.
  - disminución del número de células de otro tipo.
- Si el número total de células de cualquier tipo por mm^3 es elevado, se considera un aumento absoluto; pero si únicamente el valor relativo resulto elevado, a causa de haber disminución de otro tipo de células, es un aumento relativo.

❖ **Materiales**

- ✓ Microscopio
- ✓ Contador Manual de Células
- ✓ Aceite de Inmersión
- ✓ Frotis teñido de la muestra de sangre

Fig. 3.59. Contador Manual de Células

❖ **Procedimiento**

1. Se lleva a cabo contando un cierto número de leucocitos (200 o más) sobre un frotis de sangre teñida.
2. La observación microscópica se hace con el objetivo de inmersión 100x, habiendo colocado una gota de Aceite de Inmersión.
3. Los leucocitos tienden a acumularse principalmente en los bordes de la extensión y es en estas zonas en las que se realiza el contaje; siguiendo una trayectoria en vaivén, zig/zag o grecas.

- ✓ Se sigue a lo largo el margen exterior del frotis en unos tres campos, correr hacia adentro un trecho corto (1 mm o tres campos), luego paralelo al margen para examinar tres campos más, y luego regresar al borde del frotis; es a lo que se le conoce como grecas.

4. Se anota el número de cada tipo de leucocitos encontrados, y una vez contadas e identificadas todas las células (200 o más) se calcula el porcentaje de cada uno de los tipos.

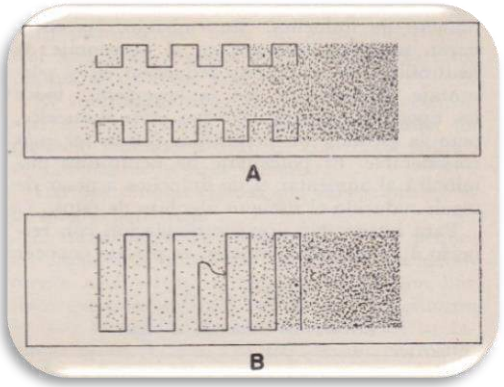


Fig. 3.60. Formas de Lectura del Frotis Teñido. Tomado de Medway *et al.* (1973)

❖ **Calculo**

A. Según Messeguer *et al.* (1992) el Valor Relativo se calcula, con la siguiente formula:

- ➢ % del Tipo de Leucocito = 100 * (nº de cada tipo leucocitario) / nº total de leucocitos contados.

100 será la constante, y se multiplicara por el número de cada tipo de leucocito contado; siendo el resultado dividido entre el total de leucocitos contados en el frotis.

B. Según Medway *et al*. (1973) el Valor Absoluto se calcula, con la siguiente formula:

- ➢ Tipo de Leucocito/mm^3 = % de cada tipo de leucocito * leucocitos/mm^3.

El porcentaje o valor relativo de cada tipo de leucocito, se multiplicara por el valor del recuento total de leucocitos.

- A modo de comprobación, la suma de los valores relativos de todos los tipos de leucocitos debería ser igual a 100; y la suma de los valores absolutos de todos los tipos de leucocitos debería ser igual al recuento de leucocitos (Duncan y Prasse 2005).

3.4.3. Interpretación de las Respuestas Leucocitarias

3.4.3.1. Interpretación del Conteo Leucocitario

Messeguer *et al.* (1992) describe que en el Sistema Leucocitario se distinguen 2 tipos de alteraciones:

A. Reactivas

Son consecuencia de la respuesta del organismo frente a la influencia de determinados agentes, lo que puede originar un aumento en el número de glóbulos blancos (Leucocitosis), o un descenso en ellos (Leucopenia). Tanto una como la otra pueden afectar a los glóbulos blancos en su conjunto, hablándose en tales casos de leucocitosis o de leucopenias absolutas o bien afectar solamente a alguno de los tipos leucocitarios (Messeguer *et al.* 1992).

a. Leucocitosis

Consiste en la elevación por encima del rango de referencia del número de leucocitos. Por regla general es un solo tipo de células el causante del aumento, pero puede haber aumentos simultáneos en varios tipos de leucocitos. La elevación del número de neutrófilos ocurre con una frecuencia tan superior a la del aumento del número de otros tipos de leucocitos que, en general el término leucocitosis implica neutrofilia; a menos que se le agregue un adjetivo, ejemplo, leucocitosis eosinofila (Benjamin 1962).

- Leucocitosis fisiológica:

  - Edad:
    - En caninos y bovinos, las crías tienen la cuenta total de leucocitos más alta que los animales adultos.
    - En porcinos, las crías tienen la cuenta total de leucocitos más baja que en los animales adultos.
    - En equinos y ovinos, no se da diferencia significativa entre las cuentas leucocitarias en las crías y animales adultos.
  - Digestión:
    - Los caninos presentan un aumento de leucocitos que comienza una hora después de comer, y alcanza su máximo a las 3-4 horas.
    - Los porcinos experimentan un aumento de más de 5,000 leucocitos/mm^3 por encima del rango de referencia, en un rango de 1 hora y ¾.
    - Los equinos experimentan una débil leucocitosis.
    - Leucocitosis propia de la digestión, parece estar ausente en los rumiantes.
  - Ejercicio: debido a la redistribución de células normalmente retiradas de la circulación activa.
  - Miedo, excitación: suele ser transitoria.
  - Gestación.

- Leucocitosis patológica:

  - <u>Aparición simultanea de fiebre y leucocitosis:</u> Infecciones agudas por bacterias piogénicas, los cuales son fuente de exudados purulentos, de fiebre y leucocitosis: estafilococus, streptococus, difteroides. En ocasiones virus como la rabia, producirá leucocitosis moderada.
  - <u>Ausencia de leucocitosis con fiebre:</u> Enfermedades por virus, Infecciones entéricas, Tuberculosis, Enfermedades producidas por hematozoarios.
  - <u>Afecciones no infecciosas asociadas a leucocitosis:</u> Diabetes, Uremia, Neoplasmas malignos, Hemorragias agudas o hemolisis, Envenenamiento por drogas y productos químicos.

b. Leucopenia

Consiste en el descenso por debajo del rango de referencia del número de leucocitos. Una leucopenia balanceada es ocasionada por una disminución de todos los tipos de leucocitos o puede ser causada por la reducción de cualquiera de los tipos leucocitarios, recibiendo el nombre del tipo de leucocito que disminuye (Benjamin 1962).

- Infecciones:
  - Infecciones por virus: enteritis felina, moquillo (al principio), hepatitis infecciosa canina, cólera porcino, influenza porcina, enfermedades de las mucosas del ganado, fiebre catarral maligna del ganado.
  - Infecciones bacterianas abrumadoras.
  - Infecciones por protozoarios.
- Estados caquécticos y de debilitación
- Trastornos hematopoyéticos
- Agentes físicos:
  - Radiación ionizante: rayos X, agentes radiactivos (radio).
- Agentes químicos:
  - Antibióticos: penicilina, estreptomicina, terramicina.
  - Sulfamidas.
  - Analgésicos: fenacetina, antipirina, aminopirina.
  - Antihistamínicos: antergan, piribenzamina.
  - Anticonvulsivos: dilantina, mesantoina, tridiona.
  - Drogas antitiroideas: tiouracil, propiltiouracil.
  - Depresores hematopoyéticos: mostaza de nitrógeno, aminopterina, mileran, trietileno melamina.
  - Compuestos arsenicales: arsfenamina, neoarsfenamina.
  - Otros productos: barbitúricos, plomo, mercurio, oro, bismuto, cloropromacina.

B. Esenciales

Se incluye las leucemias de etiología desconocida, caracterizada por una proliferación incontrolada del sistema leucocitario (Messeguer *et al.* 1992).

3.4.3.2. Interpretación del Recuento Diferencial de Leucocitos

A. Neutrófilos

a. Neutrofilia

- Fisiológica: Excitación, Miedo, Ejercicio, Convulsiones, Parto.
- Corticosteroides:
  - Exógenos (administración de fármacos).
  - Endógenos (estrés, hiperadrenocorticismo).
- Inflamación (local o generalizada):
  - Infecciosa (primaria o secundaria): Bacterias, Rickettsias, Virus, Hongos, Parásitos.
  - No infecciosa: Quemaduras, Infarto, Enfermedades inmunomediadas, Necrosis, Postoperatorio, Trombosis.
  - Hemorragia y hemolisis.
  - Toxemia / intoxicación: Botulismo, Endotoxemia, Uremia.
  - Neoplasia: Leucemia granulocitica, Leucemia mielomonocitica, Otras neoplasias malignas (incluyendo síndromes paraneoplásicos).
  - Anomalías genéticas: Deficiencias en la adhesión de leucocitos.

- La neutrofilia inflamatoria, suele producirse con un aumento en el número de los neutrófilos inmaduros; alarmante cuando el número de neutrófilos inmaduros iguale o supere al de los neutrófilos maduros, o exista desviación a la izquierda sin neutrofilia.

b. Neutropenia

- Demanda tisular aumentada: Infección bacteriana, Endotoxemia, Enfermedades inmunomediadas.
- Desviación de neutrófilos del grupo circulante al marginal: Endotoxemia (respuesta transitoria y difícil de detectar).
- Producción de neutrófilos disminuida:
  - Quimioterapia y radioterapia.
  - Reacciones farmacológicas idiosincrásicas: Antibióticos, Antimicóticos, Estrógenos, AINEs
  - Agentes infecciosos: Virus, Rickettsias, Micosis diseminada, Panleucopenia felina, Toxoplasmosis.
  - Intoxicaciones: Toxicidad por estrógenos, Reacciones farmacológicas idiosincrásicas.
  - Mieloptisis: Necrosis de la medula ósea, Mielofibrosis, Síndrome mielodisplasico.
  - Alteraciones genéticas: Hematopoyesis cíclica canina (Collie Gris), Neutropenia familiar (equinos raza Standard, caninos de raza pastor Belga Tervueren).
  - Neoplasia: Neoplasia hematológica o metastasico.

c. Curva de Arneth

Indica el porcentaje de las diferentes categorías de formas polinucleares de neutrófilos, que se clasifican según el número de lobulaciones de su núcleo; se clasifican en 6 categorías: Metamielocitos, No Segmentados (En Banda), de 2, de 3, de 4 y de 5 lobulaciones (Messeguer *et al.* 1992).

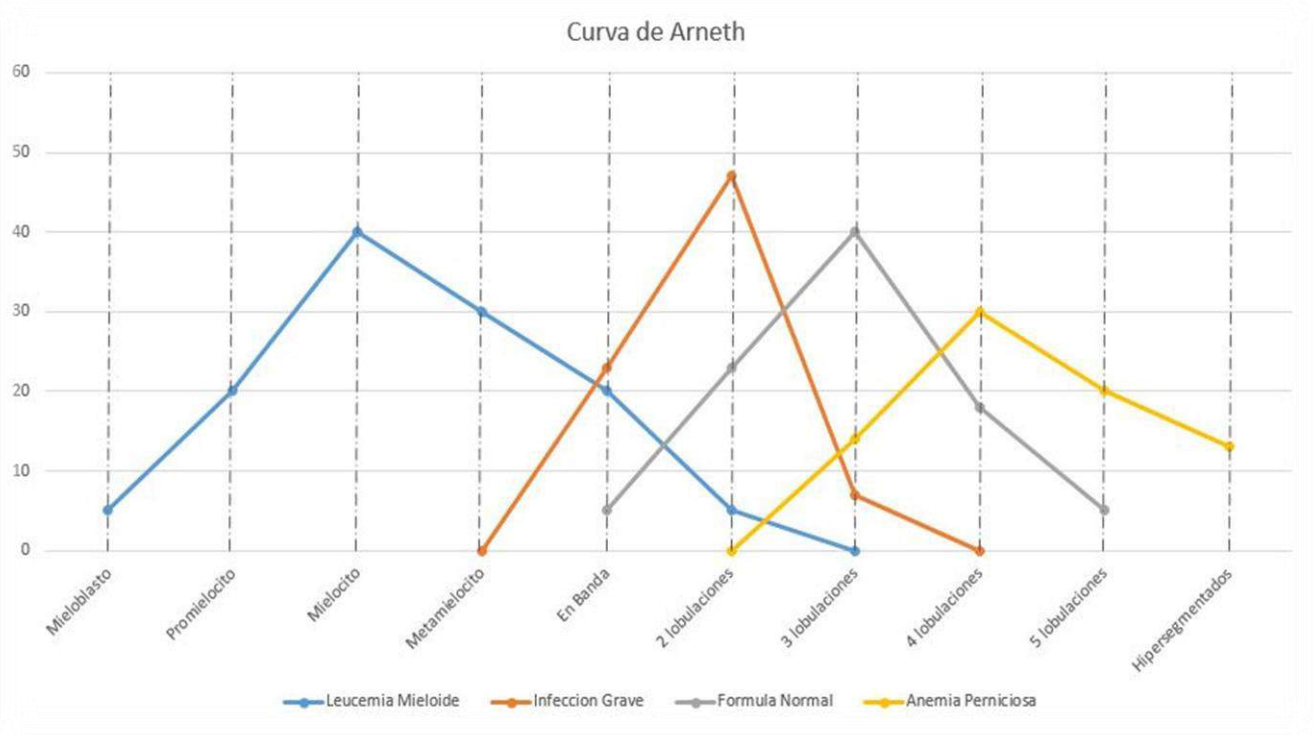


Fig. 3.61. Grafica de la Curva de Arneth

- Desviación a la Izquierda: sucede cuando el comportamiento de reserva se agota y hay una demanda continuada de neutrófilos, que se soluciona liberando neutrófilos inmaduros (principalmente formas en banda) del comportamiento de maduración. Si la enfermedad es grave se prolonga (Duncan y Prasse 2005).

  - Regenerativa: hay un aumento de los neutrófilos en banda y hay neutrofilia, en la que el número de neutrófilos es superior al número de bandas; y es un indicador de pronóstico bueno.

  - Degenerativa: el recuento de leucocitos es bajo o normal y el número de neutrófilos en banda supera al número de neutrófilos maduros. Este hecho sugiere que la medula ósea es incapaz de mantener un número adecuado de neutrófilos para solucionar el aumento de demanda; siendo esto un indicador de pronóstico grave.

- Desviación a la Derecha: se produce cuando la salida de neutrófilos de la circulación esta disminuida, y la mayoría de veces está producida por cortisol endógeno o por corticosteroides exógenos. Se produce una neutrofilia madura, con Hipersegmentacion (+ de 5 lóbulos) y picnosis que representan el cambio normal del envejecimiento.

B. Eosinofilos

a. Eosinofilia

- Parasitismo:
  - Ectoparásitos, como artrópodos.
  - Endoparásitos: Nematodos, Protozoos, Trematodos.
- Hipersensibilidad inmediata o retardada: Asma, Dermatitis, Granuloma eosinofilico, Queratitis eosinofilica felina, Gastroenteritis, Neumonitis, Panosteitis canina, Hipersensibilidad a la leche en bovinos.

- Neoplasia:
  - Primaria, como leucemia eosinofilica.
  - Paraneoplásica: Mastocitoma, Linfoma de células T, Granulomatosis linfomatoide, Diversos carcinomas, Fibrosarcoma.
- Infecciones:
  - Virus (algunas cepas de FeLV).
  - Bacterias (algunos estafilococos y estreptococos).
  - Hongos (criptococosis).
- Reacciones medicamentosas, como las tetraciclinas.
- Misceláneas:
  - Síndrome hipereosinofilico (felinos, Rottwaillers).
  - Hipoadrenocorticismo.
  - Hipertiroidismo (felinos).

b. Eosinopenia

Se produce eosinopenia tras administración excesiva de corticosteroides, hiperadrenocorticalismo y durante la fase de lucha en la mayoría de las enfermedades infecciosas agudas que cursan con neutrofilia.

C. Basófilos

a. Basofilia

La basofilia en los frotis sanguíneos de los mamíferos casi nunca es exagerada, pero la detección de incluso unos pocos basófilos en el frotis, siempre llama la atención. La basofilia aparece en felinos, pero puede pasar por alto porque los gránulos de los basófilos maduros no se tiñen de color normal, ya que se tiñen de color marrón grisáceo; mientras que en los frotis sanguíneos de equinos, se puede encontrar basofilia en ausencia de eosinofilia (Duncan y Prasse 2005).

- Parasitismo:
  - Infestaciones por *Dirofilaria immitis* (caninos y felinos).
  - Infestación por *Dipetalonema reconditum.*
  - Hepatozoonosis.
  - Ancilostomiasis (caninos).
  - Esquistosomiasis.
  - Garrapatas.
- Enfermedades alérgicas: Dermatitis, Neumonitis, Granulomas eosinofilicos, Gastroenteritis.
- Reacciones medicamentosas: Heparina, Penicilina.
- Neoplasias:
  - Mastocitoma
  - Enfermedad mieloproliferativa.
  - Granulomatosis linfomatoide.
  - Trombocitemia esencial.
  - Leucemia basofilica.

b. Basopenia: Carece de significación clínica.

D. Linfocitos

a. Linfocitosis

- Fisiológica:
  - En animales jóvenes, sobretodo en felinos.
- Infecciones subagudas o crónica.
- Durante los periodos de convalecencia.
- Estimulación antigénica crónica:
  - Infección bacteriana.
  - Infección rickettsial.
  - Infección vírica.
  - Micosis profundas.
  - Infecciones protozoarias.
  - Postvacunal.
- Hipoadrenocorticismo.
- Neoplasia linfoide: Linfoma, Leucemia linfoide.

b. Linfopenia

- Inducida por fármacos:
  - Corticosteroides: Corticosteroides exógenos, Hiperadrenocorticismo (producción endógena de cortisol).
  - Interleucina (rhIL-2).
- Infección sistémica aguda:
  - Septicemia, Endotoxemia, Virus (a menudo solo en fases tempranas).
- Inducida por tratamientos: Fármacos inmunosupresores, Quimioterapicos, Radioterapia.
- Perdida de linfa rica en linfocitos:
  - Linfa eferente: Quilotorax, Enfermedad cardiaca felina.
  - Linfa aferente: Linfoma alimentario, Neoplasias intestinales, Enteritis granulomatosa incluyendo la paratuberculosis, Enteropatías con pérdida de proteínas, Linfangiectasia, Enteritis ulcerativa.
- Desorganización de la arquitectura tisular con alteración de la recirculación de linfocitos:
  - Enfermedades granulomatosas generalizadas.
  - Linfoma multicentrico.
- Anomalías hereditarias:
  - Deficiencia selectiva de linfocitos T.
  - Inmunodeficiencia combinada grave (potros Árabes, Basset Hounds. Jack Russell Terrier).

E. Monocitos

a. Monocitosis

Puede ocurrir en cualquier momento que se produzca neutrofilia y es el cambio menos característico del leucograma en la respuesta a corticosteroides, excepto en el perro; puede observarse monocitosis tanto en la fase aguda como en la crónica, de la enfermedad. Anuncia la recuperación de la neutropenia. (Duncan y Prasse 2005).

- En casos de endocarditis bacteriana y bacteriemia, donde la monocitosis puede ser la alteración más destacada del leucograma.
- Se asocian alteraciones caracterizadas por supuración, necrosis, malignidad, hemolisis, hemorragia, lesión inmunomediada, y determinadas enfermedades piogranulomatosas.

b. Monocitopenia: Carece de significación clínica.

F. Respuesta Leucocitaria

Según Messeguer *et al.* (1992) el leucograma interpretado de forma individual, no puede develar toda la situación clínica del paciente; por tanto debe también interpretarse en conjunto, y para esto hay ciertos aspectos que pueden ayudan a la interpretación en conjunto:

- **Leucograma de Estrés:** Leucocitosis, Neutrofilia sin Desviación a la Izquierda, Linfopenia, Eosinopenia, Monocitosis (puede o no presentarse).

- **Leucograma Inflamatorio:** Leucocitosis (en mayor grado en caninos y felinos, seguido de los equinos y por último los bovinos), Neutrofilia con Desviación a la Izquierda (en mayor o menor

grado según la especie; no se aprecia en bovinos), Linfopenia, Eosinopenia, Monocitopenia (procesos agudos) o Monocitosis (procesos crónicos).

❖ **Gravedad de la Enfermedad**

- Proceso controlado por un buen funcionamiento de las Defensas Corporales: Leucocitosis, Neutrofilia con ligera Desviación a la Izquierda, Persistencia de Eosinofilos.

- Gravedad Moderada: Leucocitosis, Neutrofilia, Linfopenia, Eosinopenia.

- Proceso Toxico: Aparición de Neutrófilos Tóxicos.

- Estados Graves: Neutrófilos inmaduros exceden en número a los Neutrófilos maduros.

- Proceso en Vías de Recuperación: Recuperación en la normalidad del número de Leucocitos totales, Descenso en el número de Neutrófilos, Recuperación en el número de Linfocitos y Eosinofilos.

❖ **Curso de la Enfermedad**

- Enfermedad de Curso Agudo: Desviación a la Izquierda Regenerativa, Leucopenia (fase aguda de los procesos víricos).

- Enfermedad de Curso Crónico: Desviación a la Izquierda Degenerativa, Monocitosis.

❖ **Pronostico de la Enfermedad**

- Pronostico Desfavorable: Desviación a la Izquierda Degenerativa, Leucopenia persistente, Neutrófilos Tóxicos, Linfopenia persistente, Ausencia de Eosinofilos.

- Pronóstico Favorable: Recuperación en la normalidad del número de Leucocitos Totales, Recuperación de Linfocitos y Eosinofilos, Desaparición de Neutrófilos Tóxicos, Aumento de los Monocitos.

- Pronóstico Reservado y Pronóstico Grave (Duncan y Prasse 2005)

  - Cambios en los Neutrófilos:
    - Neutropenia, independiente de su causa, es peligrosa porque aumenta el riesgo de infección bacteriana secundaria.
    - Desviación a la izquierda degenerativa, independiente del recuento total de neutrófilos, implica una intensa demanda de neutrófilos por parte de los tejidos que supera la capacidad de la medula ósea para reemplazar a estas células.
    - Leucocitosis neutrofilica extrema con o sin desviación a la izquierda, con mielocitos o precursores más tempranos de los neutrófilos; indica pronóstico reservado hasta que la leucemia granulocitica pueda ser descartada y el proceso patológico identificado.

- Cambios en los Linfocitos:
  - Recuento de linfocitos en descenso en un paciente aparentemente sano es indicativo de enfermedad inminente, aunque es indistinguible de un efecto por corticosteroides.
  - La Linfopenia persistente sugiere enfermedad en curso.
  - Linfocitosis marcada implica pronóstico reservado hasta que pueda excluirse la posibilidad de leucemia linfocítica o de linfoma.

3.4.3.3. Alteraciones de la Morfología Leucocitaria

Duncan y Prasse (2005) exponen varias alteraciones de la morfología de los leucocitos, y se pueden clasificar, como sigue:

A. Cambios Tóxicos en los Neutrófilos

La toxemia puede perturbar la maduración de los neutrófilos, causando cambios citoplasmáticos, denominados como cambios tóxicos. Existen 4 manifestaciones de cambios tóxicos:

- Basofilia citoplasmática: el citoplasma tiene una coloración azul difusa, esta es la última forma de cambio toxico en desaparecer al recuperarse de una enfermedad.

- Vacuolizacion citoplasmica (aspecto espumoso): suele ocurrir concurrentemente con la Basofilia citoplasmática, la Vacuolizacion citoplasmica es una manifestación grave de cambio toxico; se produce durante una bacteriemia o infección generalizada en la mayoría de las especies. Este cambio se produce por la disolución de los gránulos citoplasmáticos.

- Cuerpos de Döhle: inclusiones citoplasmáticas de color azul a gris, angulares, que representan agregados de retículo endoplasmico rugoso retenido; se observan en frotis de felinos.

- Granulación toxica: se observa con poca frecuencia en frotis de equinos y felinos, indicativa de toxemia grave; Se caracteriza por una prominente granulación del citoplasma de color rosa a purpura.

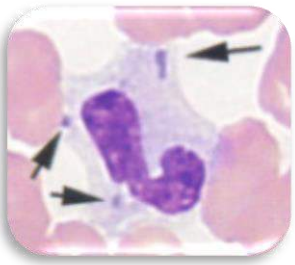


Fig. 3.62. Cuerpos de Döhle. Tomado de Sink y Feldman (2004)

B. Hipersegmentacion Nuclear de los Neutrófilos

Se observan 5 o más lobulaciones nucleares. Causas de Hipersegmentacion de los Neutrófilos:

- Aumento de la vida media en sangre en tratamientos con corticosteroides, hiperadrenocorticismo, o fases tardías de enfermedad inflamatoria crónica.
- Hallazgo idiopático en caballos y cabras.
- Deficiencia de cobalto en bovinos.
- Macrocitosis hereditaria en Caniches.
- Absorción anormal de la Vitamina B_{12} en Schnauzers Gigantes.
- Síndrome mielodisplasico y algunas formas de leucemia.

Fig. 3.63. Neutrófilo Hipersegmentado. Tomado de Reagan (1999)

C. Hiposegmentacion Nuclear de los Neutrófilos

Forma del núcleo es típica de bandas (márgenes nucleares paralelos), metamielocitos (ligera indentación nuclear) o mielocitos (núcleo redondo u oval). El patrón de cromatina sugiere posibles causas para este cambio en la morfología nuclear:

- Patrón de cromatina menos agregada, puede observarse en:
  - Desviación a la izquierda de la infección.
  - Reacciones leucemoides.
  - Algunos tipos de leucemia granulocitica.

- Patrón de cromatina agregada de forma basta, puede observarse en:
  - Anomalía de Pelger-Huët: es un problema hereditario descrito en perros (Pastor Australiano, Coonhound, Foxhounds), gatos, conejos y caballos. Los Eosinofilos y basófilos tienen Hiposegmentacion, pero la función celular no se ve afectada.
  - Anomalia de Pseudo-Pelger-Huët: es un problema adquirido y transitorio, asociado a infección crónica en especial de bovinos, y administración de ciertos fármacos.

D. Maduración Nuclear Asincrónica

Se caracteriza por la presencia de lobulaciones nucleares con cromatina dispersa (signo de inmadurez) conectadas por constricciones o filamentos muy finos (signos de madurez). Acompaña a la granulopoyesis resurgente, leucemia granulocitica y síndrome mielodisplasico.

E. Linfocitos Reactivos (grandes linfocitos)

Se observan a menudo tras una estimulación antigénica (ej. infección, vacunación).

F. Linfoblastos (linfocitos inmaduros)

Cuando se encuentran en frotis, suelen indicar linfoma maligno con un perfil sanguíneo de leucemia o leucemia linfoblastica aguda.

G. Eosinofilos Desgranulados

Se activan durante la enfermedad y parecen "apolilladas", por Vacuolizacion y desgranulación del citoplasma. Los Greyhounds pueden tener Eosinofilos vacuolados en condiciones normales.

3.5. TROMBOCITOS

Los trombocitos o plaquetas son cuerpos irregulares redondos u ovoides pequeños, el citoplasma es claro y de un gris pálido con numerosos y finos gránulos rosa-purpuras o rojizos; de 2 a 4µ de tamaño, derivados de la porción del citoplasma de grandes células de la medula ósea llamadas megacariocitos; por lo tanto, no contienen núcleo y puesto que pueden observarse pocos detalles con el microscopio óptico se han denominado "elementos formes" en lugar de células (Jardon 2003).

Las plaquetas felinas son más variables en tamaño y pueden ocasionalmente ser tan grandes como los eritrocitos, especialmente propensas a agregarse *in vitro*; las plaquetas equinas se tiñen menos en las tinciones de Romanovsky (Tinción de Wright y Giemsa) y pueden resultar difíciles de identificar en el frotis sanguíneo (Duncan y Prasse 2005).

Las plaquetas tienen un papel crítico en la hemostasia y en el mantenimiento de la integridad vascular, pero también son esenciales para la inflamación y la curación de las heridas. Estos efectos están mediados por interacciones complejas celula a celula y la liberación de muchos mediadores solubles de las plaquetas (Gentry 2000 y Villiers y Blackwood 2005).

Según Messeguer *et al.* (1992) las plaquetas o trombocitos ejercen varias funciones en relación con la coagulación sanguínea:

- Agregación plaquetaria: formando a manera de un tapón hemostático.
- Adhesión de las plaquetas: las plaquetas se adhieren a las fibras de colágeno de la pared vascular, lo que provoca a su vez la liberación de sustancias activas intraplaquetarias (serotonina, histamina, ADP).
- Actividad fagocitaria: ejercen esta actividad sobre algunas partículas, así como sintetizan y liberan algunos de los principales componentes del factor VII de coagulación.
- Intervienen en la retracción del coagulo.

3.5.1. Generalidades

Todas las células sanguíneas de la medula ósea surgen de una célula madre (Célula Madre Mieloide) común, esta célula madre multipotencial origina diferentes fases de células progenitoras, que posteriormente, se diferencian en células de las diferentes series. Este caso estudiamos la serie megacariocitica. La megacariocitopoyesis o trombopoyesis, es el proceso mediante el cual se forman las plaquetas que promueven la coagulación para impedir la pérdida de sangre; este proceso tiene lugar en la medula ósea (Meyer y Harvey 2007).

La Megacariocitopoyesis es única comparada con el desarrollo de las células sanguíneas restantes. Los Megacarioblastos son los primeros precursores, posteriormente se diferencia en Promegacariocitos, de este surge Megacariocitos; y de estos últimos se escinden fragmentos citoplasmáticos llamados Protoplaquetas. De un Megacariocito se originan 6 Protoplaquetas que dan lugar a su vez de 6-12 Plaquetas (Medway *et al*. 1973).

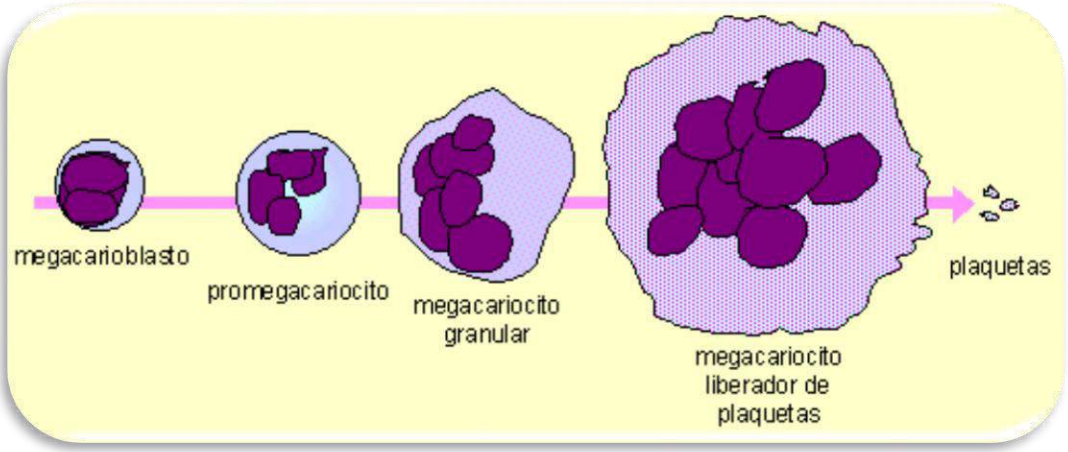


Fig. 3.64. Megacariopoyesis

❖ **Descripción Morfológica de las Fases que Componen la Megacariocitopoyesis, según Reagan (1999):**

A. Megacarioblastos: célula grande con un solo núcleo redondo y un nucléolo prominente.

B. Promegacariocitos: es más grande que el megacarioblastos y tiene un núcleo multilobulado con un citoplasma agranular azul oscuro.

C. Megacariocitos: tiene un núcleo multilobulado, y abundante citoplasma granular.

D. Protoplaquetas: fragmentos citoplasmático de los megacariocitos que originan a las plaquetas.

E. Plaquetas: células pequeñas en forma discoidal que no posee núcleo; posee un citoplasma rosa pálido y algunas veces contiene, gránulos inconfundibles de color purpura, cuyo tamaño es 2-4µ.

El tamaño de las plaquetas varía según la zona del frotis donde se haga la observación (más pequeñas en la porción gruesa); en general las plaquetas de los rumiantes y equinos son menores que las de caninos y felinos. La presencia de granulaciones es muy marcada en felinos; pero no en caninos y rumiantes, prácticamente imperceptibles en equinos (Messeguer *et al*. 1992).

3.5.2. Evaluación Laboratorial de los Trombocitos

3.5.2.1. Conteo Plaquetario

Permite conocer el número de trombocitos o plaquetas/mm^3 de sangre y puede hacerse de 2 formas; directamente por medio de su contaje usando la cámara de Neubauer, o indirectamente, a través del examen de un frotis de sangre teñido.

Duncan y Prasse (2005), citan que para realizar el recuento por el método manual (usando la Cámara de Neubauer) debe cumplirse con:

- Se debe emplear sangre entera, haciendo uso del anticoagulante Citrato Sódico (citrato trisodico al 3.8%), en una dilución de 9 partes de sangre y 1 parte de anticoagulante.
- La sangre entera se diluye y los eritrocitos se lisan, haciendo uso de uno de diferentes tipos de líquidos diluyentes (Sol. de Rees-Ecker o Sol. de Oxalato de Amonio 1%).
- Se debe contar con microscopia óptica o de contraste de fase.
- Los recuentos manuales deben compararse con los recuentos estimados en el frotis.

La precisión del recuento de plaquetas de forma manual, es de moderada a mala, y el coeficiente de variación suele oscilar del 20-25%; los agregados plaquetares interfieren con la precisión.

A. Método Directo

El material a emplear y la técnica a seguir son similares a los descritos en el Recuento de Glóbulos Rojos, a excepción de las soluciones empleadas como diluyentes.

❖ **Materiales**

- ✓ Microscopio
- ✓ Cámara de Neubauer Modificada
- ✓ Método a):
  - o Pipeta de Thomas para Glóbulos Rojos
- ✓ Método b):
  - o Pipetas Automáticas (1 de 10/100 y 1 de 100/1000)
  - o Puntas para ambos tipos de Pipetas automáticas
- ✓ Liquido diluyente (Sol de Rees-Ecker o Sol. de Oxalato de Amonio 1%)

♣ **Solución de Rees-Ecker** (Benjamin 1962)

- Citrato Sódico: 3.80 g
- Formalina: 0.20 ml
- Azul Cresil Brillante: 0.1 g
- Agua Destilada: 100 ml

Conservar tapado y refrigerado. Filtrar antes de su uso.

♣ **Solución de Oxalato Amónico** (Messeguer *et al.* 1992)

- Oxalato Amónico: 1 g
- Agua destilada: 100 ml

Es el más empleado para el Recuento Plaquetario de sangre periférica. Mantenerse en refrigeración para evitar el crecimiento bacteriano.

❖ **Procedimiento**

a) Uso de Pipetas de Thomas

1. Haciendo uso de la Pipeta de Thomas para Gl. Rojos, se aspira la solución diluyente hasta llenar el bulbo de la pipeta, con el objeto de humedecerla interiormente para posteriormente desechar el exceso de líquido.
2. Se aspira sangre hasta la marca 0.5, y seguidamente se aspira el líquido diluyente hasta la marca 101 (dilución 1:200). Posteriormente se agitar por 3 minutos y dejar reposar 10 minutos.
3. Despreciar las primeras gotas y llenar ambos lados de la Cámara de Neubauer para el recuento
4. Se coloca la Cámara de Neubauer en una Cámara Húmeda durante 15 minutos, para que los trombocitos se asienten.
   - ✓ Cámara Húmeda: una placa Petri en la cual se adhiere un papel filtro humedecido; sobre el cual se colocara la Cámara de Neubauer, y luego se tapara para evitar la evaporación.
5. Una vez haya transcurrido el tiempo se lleva al microscopio y se llevara a cabo el conteo.

b) Uso de Pipetas Automáticas

1. Se trabaja con Pipetas Automáticas a Dilución de 1:200, descargando 20 µl de sangre en un tubo de ensayo de 5 ml, haciendo uso de la Pipeta de 10/100, posteriormente se depositan 980 µl de la solución diluyente usando la Pipeta de 100/1000.
   - ✓ Dilución 1:100 = 40 µl de sangre y 960 µl de solución diluyente
2. Agitar vigorosamente el tubo de ensayo, tapando el extremo; durante al menos 2 minutos y se deja reposar por 10 minutos.
3. Se procede al llenado, colocando la Pipeta en un ángulo de 45º grados y depositando 10µl aproximadamente, dejando que el líquido llene el espacio entre el cubre y la cámara, por capilaridad; y se cargan ambos lados de la cámara.
4. Se coloca la Cámara de Neubauer cargada, en una Cámara Húmeda por 15 minutos.
5. Una vez haya transcurrido el tiempo se lleva al microscopio y se llevara a cabo el conteo.

❖ **Lectura**

1. Bajo luz moderadamente reducida, se localiza el Retículo central y se lee a Objetivo 40x; en ambos lados de la cámara.
2. Se lee 5 cuadrantes, que se hayan ubicados en el centro del Retículo (E, F, G, H, I), y estos a su vez están divididas en 16 cuadriculas.
   - ✓ Los cuadrantes E, F, G, H se localizan en los extremos del Retículo central, y el cuadrante I se encuentra localizada en el centro propiamente dicho del Retículo.
3. Se examinan en un orden fijo, comenzando por el extremo superior izquierdo y siguiendo una trayectoria en zig/zag hasta haber contado todas las células contenidas en las 16 cuadriculas, repitiendo la misma operación en los otros 4 cuadrantes del Retículo.
   - ✓ Hay células que caen sobre los bordes limitantes, por esto razón se recomienda contar sistemáticamente las células que caigan sobre 2 de los bordes (superior y derecho), despreciando las que caigan sobre los otros 2 bordes (inferior e izquierdo).

- Las plaquetas se identifican como formaciones redondeadas u ovales, con un diámetro aproximadamente la mitad que el de los Hematíes.
  - ✓ Es importante distinguir los trombocitos de partículas extrañas, aceite y bacterias.

❖ **Calculo**

Se toma el promedio del número total de trombocitos o plaquetas contadas en ambos lados de la cámara, y se multiplica por 2,000; dando así el total de plaquetas/mm^3. (Medway *et al*. 1973)

- Dilución 1:200 y se observa 0.1 mm^3: 200 * 10 = 2,000.
- Si la dilución es de 1:100 el factor por el que se debe multiplicar es 1,000.

- Los resultados obtenidos deberán verificarse haciendo un escrutinio sobre un frotis teñido, y viendo si el número de plaquetas es mayor o inferior del normal.

B. Método Indirecto

Es un método menos exacto, pero más práctico. Se hace a partir de un frotis de sangre teñido, empleando varias técnicas para estimar el número de plaquetas, y se consigna como en plaquetas/campo (Messeguer *et al*. 1962).

a. Opción 1

Se cuentan las plaquetas existentes por campo de inmersión, contando mínimo 5 campos; una vez finalizado se suman y el total se divide en 5, dando así un promedio de plaquetas/campo de inmersión.

- ✓ Estas estimaciones son difíciles de realizar sobre todo cuando hay formación de agregados plaquetarios.

- Nº de Plaquetas/campo de Inmersión = ∑ plaquetas contadas en los 5 campos / 5

b. Opción 2

Si conocemos el número de Glóbulos Blancos totales, podemos calcular el número de Plaquetas en relación al mismo, contando las Plaquetas vistas por cada 100 leucocitos y aplicando la siguiente formula:

- Nº Plaquetas/mm^3 = (Nº Plaquetas contadas * Nº total de Glóbulos Blancos) / 100

c. Opción 3

Si conocemos el número total de Glóbulos Rojos y contamos las plaquetas vistas por cada 1,000 eritrocitos; podemos aplicar la siguiente formula:

- Nº Plaquetas/mm^3 = (Nº Plaquetas contadas * Nº total de Glóbulos Rojos) / 1,000

❖ **Cálculo Aproximado**

Según Messeguer *et al.* (1992) a título orientativo se puede consignar el número de plaquetas/campo como sigue:

- Lo normal para la mayoría de las especies: entre 10-25 plaquetas/campo.
- Menos de 3-4 plaquetas: trombocitopenia significativa.
- 6-7 plaquetas/campo: aproximadamente 100, 000 plaquetas/mm^3.
- 8-10 plaquetas/campo= > 100,000/mm^3.

- Menos de 1 plaqueta/50 eritrocitos, denota una trombocitopenia, pero debe considerarse la presencia de anemia.

- En felinos cada plaqueta/campo, corresponde aproximadamente a 20,000 plaquetas/mm^3, el frotis de felinos con agregados plaquetares se asocia con adecuado número de plaquetas.

3.5.3. Evaluación de las Alteraciones Plaquetarias

Las alteraciones funcionales de las plaquetas y la trombocitopenia pueden provocar sangrados, los cuales suelen afectar a las superficies corporales y las mucosas; así como también pueden observarse hemorragias de tipo petequias y equimosis. La trombocitosis y el incremento de la función plaquetar pueden incrementar el riesgo de trombosis (Duncan y Prasse 2005).

3.5.3.1. Trombocitopatía o Tromboastenia

En ocasiones el número de plaquetas puede ser normal, aunque su funcionalidad no lo sea; con lo cual surgen problemas hemorrágicos. Debe sospecharse en animales con tendencia a sangrar, pero con recuento de plaqueta, perfil de coagulación y antígeno al factor de von Willebrand normales (o ligeramente incrementados) (Villiers y Blackwood 2005).

Según Duncan y Prasse (2005) las trombocitopatías pueden ser Hereditarias o Adquiridas; de las cuales las trombocitopatías hereditarias pueden dividirse en extrínsecas o intrínsecas:

A. Hereditarias (Congénitas)

a. Extrínsecas

- Enfermedad von Willerbrand (EvW): Involucra defecto del factor VIII (Factor Antihemofílico) y deficiente funcionamiento plaquetario; es relativamente común en perros, pero rara en gatos, caballos y bovinos. Puede incluir hemorragias de mucosas (epistaxis, sangrado gastrointestinal, hematuria, sangrado excesivo en la erupción de los dientes), sangrado prolongado de heridas e incremento de los hematomas cutáneos (ej. Tras la venopunción), y no se observan petequias.

b. Intrínsecas

- Sindrome de Chediak-Higashi: falta de gránulos densos en las plaquetas, individuos afectados tienen un color de capa diluido y pueden sufrir sangrados prolongados en, incisiones quirúrgicas y formación de hematomas en zonas de venopunción.

- Tromboastenia de Glanzmann: defecto o deficiencia de glucoproteinas Iib-IIIa, las plaquetas tienen opacidad o deficiencia para la unión de fibrinógeno, se observa una reducción de la agregación plaquetar o esta es defectuosa y una retracción anormal del coagulo. Se ha descrito en Otterhouns y Mastín de los Pirineos.

- Trombopatía Canina: provoca hemorragias petequiales; las plaquetas muestran una exposición anormal de los receptores de fibrinógeno y una alteración de la liberación de gránulos densos. Se ha descrito en Basset Hounds; así como también descrito en el American Eskimo Dog (Spitz).

- Trombopatía Bovina: descrita en vacas Simmental, se asocia con un sangrado de leve a moderado que se intensifica en traumatismo o cirugía.

B. Adquiridas

- Azotemia.
- Coagulación Intravascular Diseminada (CID).
- Asociado a fármacos AINEs.
- Disproteinemias.
- Infección por *Anaplasma platys.*
- Hepatopatía.
- Trombocitopenia Inmunomediada.

3.5.3.2. Trombocitosis

Recuentos de plaquetas exceden el intervalo de referencia; los individuos con trombocitosis pueden encontrarse a mayor riesgo de trombosis o hemorragia, dependiendo de la función plaquetar; sin embargo la trombocitosis por enfermedades mieloproliferativas pueden incrementar el riesgo de enfermedad tromboembolica. (Medway *et al*. 1973)

Duncan y Prasse (2005), citan que hay 3 tipos principales de trombocitosis:

A. Trombocitosis Fisiológica

Es un fenómeno transitorio que puede producirse por una movilización de plaquetas de los compartimientos esplénico y pulmonar, por liberación de epinefrina o por la realización de ejercicio.

B. Trombocitosis Esencial (Trombocitosis Primaria)

Se trata de una alteración mieloproliferativa donde hay una proliferación de los megacariocitos en la medula ósea y una producción autónoma excesiva de plaquetas estructural y funcionalmente anómalas. Es poco frecuente en pequeños animales.

- Trombocitosis persistente y marcada.
- Anemia, que puede ser regenerativa o no regenerativa.
- Hemorragia y hemolisis.
- Esplenomegalia.
- Son comunes las petequias y equimosis, o potenciación de la función plaquetar puede predisponer a la trombosis.
- Cambios morfológicos de las plaquetas que incluyen variaciones de tamaño, forma y granulación intensa.
- Megacariocitos incrementados en la medula ósea, con morfología anormal y números incrementados de megacariocitos inmaduros.

C. Trombocitosis Reactiva (Trombocitosis Secundaria)

Es la trombocitosis más habitual y la mayoría de las veces es una respuesta transitoria reactiva a otro proceso patológico primario; con un incremento transitorio en el recuento de plaquetas. Asociado a:

- Condiciones asociadas con una perdida periférica de plaquetas (hemorragia, destrucción).
- Asociado con alteraciones inflamatorias agudas y crónicas (de causa infecciosa o inmunomediada).
- Neoplasias como linfoma, leucemia, mastocitomas y una variedad de otros tumores sólidos.
- Algunas patologías endocrinas (ej. hiperadrenocorticismo).
- Corticoides exógenos y otros fármacos, incluyendo la vincristina.
- Esplenectomía por disminución de la fagocitosis plaquetar.

3.5.3.3. Trombocitopenia

El descenso del número de plaquetas por debajo del intervalo de referencia de cada especie, se le conoce como trombocitopenia; pero a titulo orientativo, cifras inferiores a 100,000/mm^3 se consideran patológicos y cifras ≤50,000/mm3 indican problemas hemorrágicos prolongados (Messeguer *et al*. 1992)

Según Benjamín (1962) y Messeguer *et al.* (1992) las principales causas de trombocitopenia están:

- Alteraciones medulares que afecta a la serie megacariocitica.
- Agentes infecciosos que pueden alterar la función plaquetar:
  - FeLV: trombocitopenia, trombocitosis y/o alteración de la función plaquetar.
  - *E. canis*: inhibición de la adhesión plaquetar y/o agregación por hiperproteinemia, pueden ocurrir en ausencia de trombocitopenia.
  - Leucemia y alteraciones mieloproliferativas pueden asociarse con defectos plaquetarios.
- Enfermedades autoinmunes: Anemia Hemolítica Autoinmune, Lupus Eritematoso Sistémico.
- Coagulación Intravascular Diseminada (C.I.D.).
- Inmediatamente después de una hemorragia (trombocitopenia transitoria).
- Fármacos: Aspirina, acetaminofén, ibuprofeno y otros fármacos AINEs, Antibioticos β-lactamicos (penicilinas y cefalosporinas).
- Idiopática.

Las hemorragias que se desarrollan por consecuencia de Trombocitopenia se presentan en forma de petequias o equimosis en piel y mucosas; aunque también puede ser por pérdida de sangre masiva y grave.

Duncan y Prasse (2005) plantean otra clasificación de las enfermedades que provocan trombocitopenia, según el mecanismo predominante:

a. Reducción de la producción o fallo en la producción de plaquetas

- Hipoplasia megacariocitica pura (perros).
- Panhipoplasia de medula ósea (pancitopenia, anemia aplasica).
- Mieloptisis.
- Agentes infecciosos, como *Ehrlichiosis* y otras enfermedades ricketsiales; así como FeLV, Anemia Infecciosa Equina, Diarrea Viral Bovina.

b. Consumo de plaquetas o destrucción a una tasa más elevada que la producción de plaquetas

- Trombocitopenia inmunomediada (primaria, secundaria, por vacunas).
- Trombocitopenia inducida por fármacos.
- Incremento de la activación y eliminación de plaquetas pueden ocurrir con los parásitos intravasculares.

c. Secuestro plaquetar

- Congestión esplénica marcada, Neoplasias, CID.

d. Exceso de consumo de plaquetas

- Hemorragias.
- Traumatismos.
- Intoxicaciones por rodenticidas.
- CID.
- Neoplasias.

3.5.3.4. Morfología Plaquetar

- Plaquetas gigantes: pueden encontrarse en casos de trombocitopenia provocada por destrucción extensa de plaquetas o enfermedades infiltrativas de la medula ósea. Las plaquetas gigantes pueden ser redondas o elongadas.

- Fragmentos plaquetares: miden <0.1µ, y pueden aparecer en casos de anemia por deficiencia de hierro (frecuente con trombocitosis), aplasia de medula ósea, trombocitopenia inmunomediada, o como un artefacto del almacenamiento in vitro o el paso de >24 horas con EDTA como anticoagulante.

- Plaquetas con gránulos reducidos, vacuolas o tinción menos intensa: pueden observarse en situaciones en que las plaquetas han sido activadas in vitro (ej. Mal manejo o en la recolección de la muestra).

3.6. PROTEINAS PLASMATICAS

3.6.1. Generalidades

De forma colectiva, las proteínas plasmáticas realizan una función nutritiva, ejercen presión coloide osmótica y ayudan en el mantenimiento del equilibrio acido-base. Las proteínas de forma individual sirven como enzimas, factores de coagulación, hormonas y sustancias de transporte. El principal lugar de síntesis es el hígado y el segundo lugar es el sistema inmunitario (Duncan y Prasse 2005).

Las proteínas conceden al plasma su color amarillo pálido característico. Las proteínas plasmáticas se sintetizan en el hígado y se añaden al torrente sanguíneo cuando éste pasa por los capilares hepáticos (Mutis y Ramírez 2003).

La mayor parte de la proteína total está compuesta por albúmina y globulina, con una concentración reducida de fibrinógeno. Las albúminas generalmente se utilizan para ligar hormonas esteroideas, mientras que las globulinas en algunos casos forman los anticuerpos usados en la defensa contra las enfermedades; y el fibrinógeno que se disuelve en el plasma, es el responsable de la coagulación en presencia del calcio (Boffi 2007).

La albúmina es la proteína de mayor concentración en el plasma y transporta muchas moléculas pequeñas en la sangre (ej. bilirrubina, calcio, progesterona y drogas), representa el 35 – 50% de la concentración total de proteínas en animales domésticos (equinos, bovinos). Es de vital importancia para impedir que el líquido de la sangre se filtre hacia los tejidos.

3.6.2. Determinación de Proteínas Plasmáticas

Las proteínas totales suelen medirse como proteínas séricas.

A. Método de Biuret: es una técnica colorimétrica de espectrofotometría que detecta uniones peptídicas.

B. Métodos de Lowry (Folin-Ciocalteau fenol) y Lowry modificado (ácido bicinconico o BCA): son los métodos preferidos para líquidos diluidos como orina y líquido cefalorraquídeo.

C. Métodos de precipitación (ácido tricloroacetico, ácido sulfosalicilico, cloruro de benzentonio) y de unión a colorante (Azul brillante de Coomassie RG 230) también se han empleado para cuantificar cantidades pequeñas de proteína en orina y líquido cefalorraquídeo.

D. **Refractometria:** puede emplearse para medirse la proteína en plasma, suero y líquidos de cavidades corporales.

Los cambios en el índice de refracción de la muestra son proporcionales a la concentración proteica. Los refractómetros manuales compensados por temperatura están calibrados para leer proteínas directamente en g/dl; el plasma debe ser transparente para una determinación precisa de la concentración de proteínas (Duncan y Prasse 2005).

- Según Duncan y Prasse (2005) el valor de las proteínas puede estar falsamente elevadas, en los siguientes casos:

  - Concentración anormalmente elevadas de glucosa, urea, sodio o cloro pueden provocar lecturas de proteínas falsamente elevadas
  - La hemolisis puede provocar un leve incremento en la lectura de la concentración de proteínas
  - La turbidez por lipemia o células puede dar lugar a lecturas falsamente elevadas
  - La ictericia altera el color de la muestra pero no altera la lectura

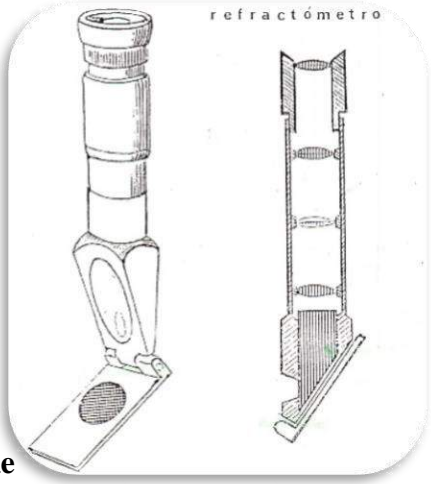


Fig. 3.65. Refractómetro de Golberg. Tomado de Messeguer *et al*. (1992)

❖ **Materiales**

- ✓ Refractómetro de Golberg
- ✓ Muestra de Plasma

❖ **Procedimiento**

1. Previamente se calibra el Refractómetro utilizando agua destilada que tiene una densidad de 1.000, llevando la lectura de la escala a cero.
2. Una vez realizada la Determinación de Hematocrito, se toma el capilar justo arriba de la capa Leucoplaquetaria, donde se localiza la Columna de Plasma en el cual se quebrara para obtener la muestra de plasma.
3. Se coloca una gota de plasma sobre la superficie oscura, que tiene el aparato en uno de sus extremos y se tapa con el cristal objetivo.

4. Se presiona con suavidad pero firmemente, dirigiendo el refractómetro hacía una fuente de luz, de manera horizontal.

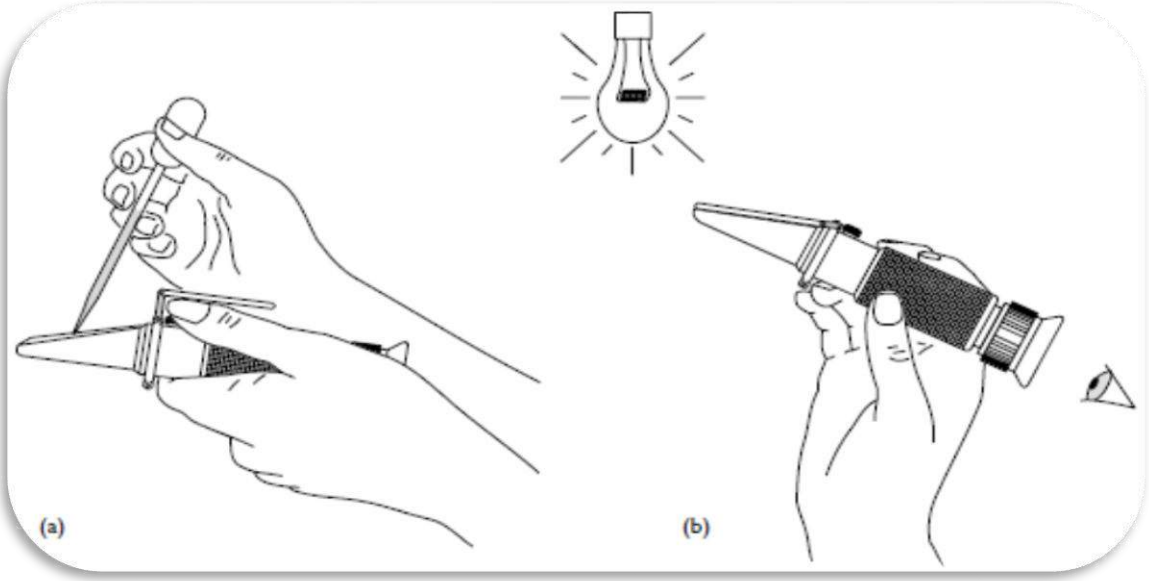


Fig. 3.66. Procedimiento para el Uso del Refractómetro. Tomado de Morag (2002)

❖ **Lectura**

1. Observamos directamente sobre una escala graduada en la lente objetivo, detectando en la escala (que va de 0-12 en la escala) la línea divisoria entre los campos oscuro y luminoso.
2. Si es necesario, se termina de enfocar el Refractómetro, moviendo el ocular.
3. De esta forma se obtiene el valor de Proteínas Plasmáticas en g/dl.
   - ✓ Si se desea en g/l, se debe multiplicar el resultado por 10.

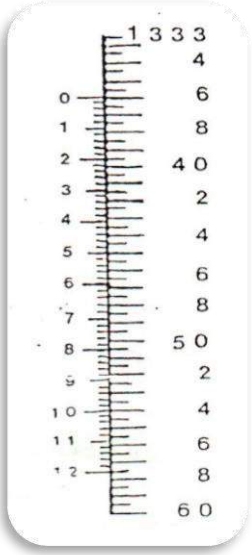


Fig. 3.67. Escala de Lectura del Refractómetro. Tomado de Messeguer *et al*. (1992)

3.6.3. Alteraciones en las Proteínas Plasmáticas

Existen factores que afectan al valor normal de proteínas plasmáticas, entre ellos, el sexo, la edad, la alimentación, la presencia de alteraciones patológicas e incluso la técnica analítica empleada (Dimopoullos 1970 y Kaneko 1980).

3.6.3.1. Hiperproteinemia

Relativa (deshidratación): la pérdida de agua hace que todas las proteínas plasmáticas se concentren de forma proporcional.

❖ Hiperalbuminemia:

- Incremento relativo de la concentración de albumina, secundario a la deshidratación; un incremento absoluto de la concentración de albumina es raro.
- No ocurre, excepto en la deshidratación.

3.6.3.2. Hipoproteinemia

- Puede aparecer una Hipoproteinemia relativa, con la dilución del plasma por un exceso de fluidos.
- Administración excesiva de fluidos intravenosos.
- Cambios de agua intersticial hacia el plasma tras una pérdida aguda de sangre o de plasma.
- Ocasionalmente, en la gestación.

❖ Hipoalbuminemia:

- Se asocia con gestación, lactación, malabsorción pancreática exocrina y enfermedad hepática crónica.
- La aceleración de la perdida de albumina aparece en: hemorragias, proteinuria de origen renal, enteropatía con pérdida de proteínas, enfermedades cutáneas exudativas graves, quemaduras, parasitosis intestinal y efusiones de elevado contenido proteico.
- Perdida selectiva de albuminas en: glomerulonefritis, nefrosis, síndrome nefrótico, gastroenteropatias, parásitos.
- Disminución de la síntesis de albuminas en: enfermedad hepática crónica, malnutrición, enfermedad inflamatoria crónica.

3.7. DIAGNOSTICO DE HEMATOZOARIOS

3.7.1. Generalidades

Los Hematozoarios son microorganismos que tienen como su hábitat al torrente sanguíneo y se desarrollan dentro o fuera de las células de la sangre (eritrocitos, leucocitos, plaquetas) y causan generalmente su destrucción. Evolutivamente corresponden a microorganismos que existían en el tubo digestivo del vector y este al alimentarse de sangre se adaptaron a las células sanguíneas del huésped vertebrado (Benavides 2005).

La sangre circulante tomada de una vena yugular o cefálica no es satisfactoria, salvo en infecciones fuertes; porque hay una gran dilución de células infectadas. La sangre capilar periférica es mejor, porque existe concentración de células infectadas en estos vasos (Medway *et al*. 1973).

Esta sección no trata de ahondar a nivel taxonómico, ni ciclo biológico o cuadro clínico; solo pretender otorgar las pautas necesarias para una correcta identificación de los Hematozoarios en el frotis sanguíneo o película de sangre; así como proporcionar hallazgos clínicos o de laboratorio que permitan confirmar la presencia de o los hematozoarios de los que se sospecha.

3.7.2. BABESIOSIS

Es una enfermedad provocada por un parasito protozoo intraeritrocitario, casi siempre demostrables en frotis sanguíneos con su característica forma de pera, se presenta en pares con sus extremos agudos tocándose de modo que forman un ángulo; también los hay de cuerpo redondo o anular, y a veces irregulares (Medway *et al*. 1973).

Cuando está teñido con Giemsa o Wright, el citoplasma es azulado con una masa rojiza de cromatina que representa el núcleo. Frotis mal teñidos muestran solamente el contorno, por lo general bien definidos, pero aparece como vacío con el interior sin teñir (Benjamin 1962).

❖ TAXONOMIA según Vignau *et al.* (2005)

- Reino: *Protista*
- Subreino: *Protozoa*
- Phylum: *Apicomplexa*
- Clase: *Sporozoea*
- Orden: *Piroplasmida*
- Familia: *Babesidae*
- Género: *Babesia*
- Especie: *Babesia bigemina, Babesia bovis, Babesia ovis, Babesia motasi, Babesia caballi, Babesia equi, Babesia canis, Babesia gibsoni, Babesia felis* y *Babesia trautmanni*

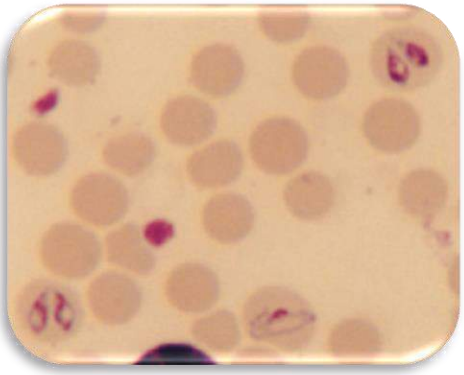
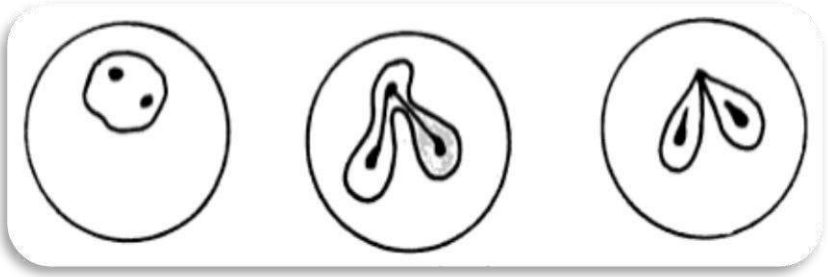


Fig. 3.68. *B. bigemina*

3.7.2.1. *Babesia bigemina*

A. Afecta a: Bovinos.
B. Morfología: forma típica de pera, el núcleo situado cerca del extremo delgado; el número de parásitos en cada eritrocito varia de 1-4, pero normalmente en pares, con los extremos unidos entre sí, formando un ángulo agudo.
C. Tamaño: 4-5µ de longitud x 2µ de ancho.
D. Localización: Eritrocitos.
E. Transmisión/Vector: *Boophilus microplus.*
F. Cuadro Clínico: fiebre, anorexia, atonía del rumen, disnea, taquicardia, las mucosas pueden verse enrojecidas primeramente para después tornarse pálidas, hemoglobinemia, hemoglobinuria severa, baja de la producción láctea, aborto, bazo e hígado aumentados, posteriormente puede mostrar ictericia, orina oscura de color rojo café, vejiga urinaria distendida, ganglios linfáticos edematosos, puede presentarse petequias.
G. Hallazgos de Laboratorio:
   - En estado febril agudo; los parásitos son numerosos; mientras que en los casos crónicos (animales en recuperación); los parásitos son escasos.
   - Cuenta total de eritrocitos, baja hasta 1-2 millones/mm^3.
   - Plasma ictérico, por elevada cantidad de bilirrubina.

Fig. 3.69. Visión Esquemática de *B. bigemina.* Tomado de Quiroz (1990)



3.7.2.2. *Babesia bovis*

A. Afecta a: Bovinos.
B. Morfología: es pequeña y pleomorfica, típicamente como un solo corpúsculo, como pequeños corpúsculos redondos o como corpúsculos en pares con forma de pera unidos entre sí en un ángulo obtuso.
C. Tamaño: 1-1.5µ de longitud x 1.5-2.5µ de ancho.
D. Localización: ocupa una situación submarginal en los eritrocitos.

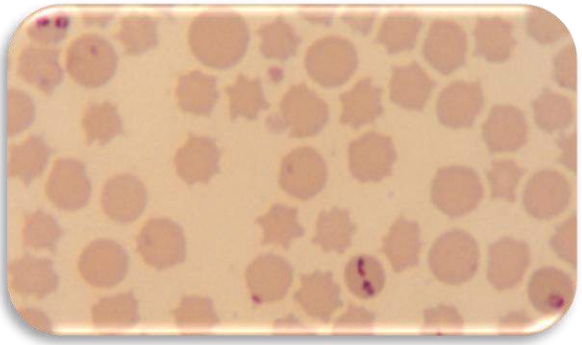


Fig. 3.70. *B. bovis*

E. Transmisión/Vector: *Boophilus microplus*

F. Cuadro Clínico: más patógeno que la *B. bigemina* y se asemejan en muchos aspectos del cuadro clínico; pero difieren en algunas características como que no se observan con frecuencia hemoglobinuria ni hemoglobinemia, el nivel de anemia es menos severo, pero con mayor frecuencia se ve afectado el sistema nervioso, incoordinación y depresión postrándose con la cabeza extendida hacia atrás, con movimientos involuntarios de las piernas durante la postración en decúbito lateral, seguida de la muerte.

G. Hallazgos de Laboratorio: baja parasitemia en la sangre circulante, anemia hemolítica, trombocitopenia, eosinofilia.

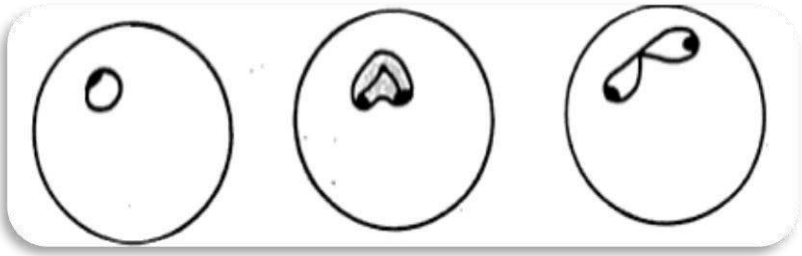


Fig. 3.71. Visión Esquemática de *B. bovis.* Tomado de Barriga (2002)

3.7.2.3. *Babesia ovis* y *Babesia motasi*

A. Afecta a: Ovinos y Caprinos.

B. Morfología:
- *B. ovis:* forma de pera en ángulo agudo.
- *B. motasi:* similar a *B. bigemina*, con forma típica de peras formando un ángulo agudo entre sí.

C. Tamaño:
- *B. ovis:* pequeñas, 1-2.5µ.
- *B. motasi:* grandes, 2.5-4µ.

D. Localización: Eritrocitos.

E. Transmisión/Vector:
- *B. ovis: Rhipicephalus bursa, Ixodes persulcatus.*
- *B. motasi: Dermacentor spp, Rhipicephalus bursa.*

F. Cuadro Clínico: fiebre, anemia, ictericia, hemoglobinuria; las *B. motasi* son más patógenas que las *B. ovis.*

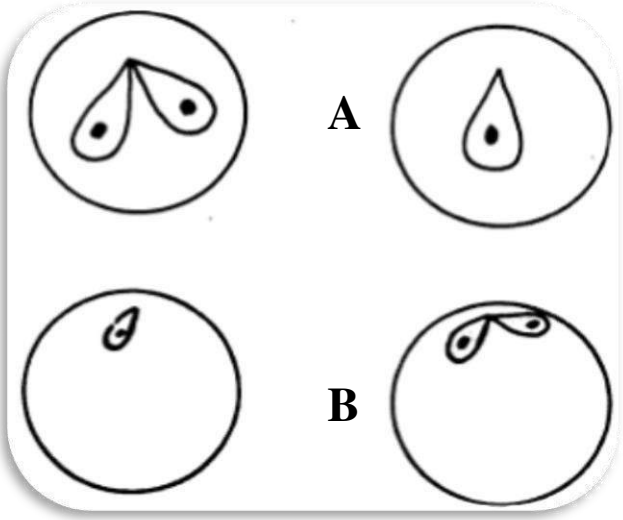


Fig. 3.72. Visión Esquemática de *B. motasi* (A) y *B. ovis* (B). Tomado de Barriga (2002)

3.7.2.5. *Babesia caballi* y *Babesia equi*

A. Afecta a: Equinos.

B. Morfología:
- *B. caballi*: piriforme, formando un ángulo agudo, en pares.
- *B. equi*: rara como parasito aislado, en forma de anillo, pero más numeroso a veces en grupos de 4 en forma de cruz de malta.

C. Tamaño:
- *B. caballi*: 3µ de longitud x 2µ de ancho.
- *B. equi*: 1,7µ x 2µ.

D. Localización: Eritrocitos.

E. Transmisión/Vector: *Hyalomma, Dermacentor.*

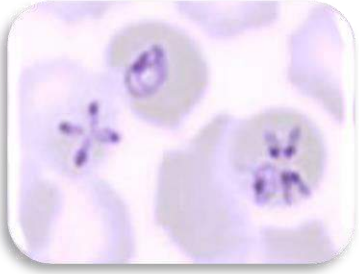
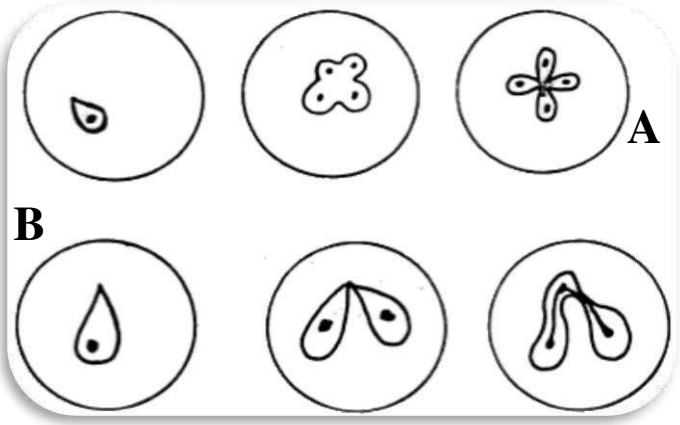


Fig. 3.73. *B. equi*

F. Cuadro Clínico: *B. equi* es más patógena que *B. caballi;* mortalidad de ambas de 10-50%.
   - *B. caballi:* al ser menos patógena, hay presentación menos manifiesta; según vaya avanzando la anemia se va presentando ictericia, fiebre, problemas locomotores con parálisis del tren posterior.



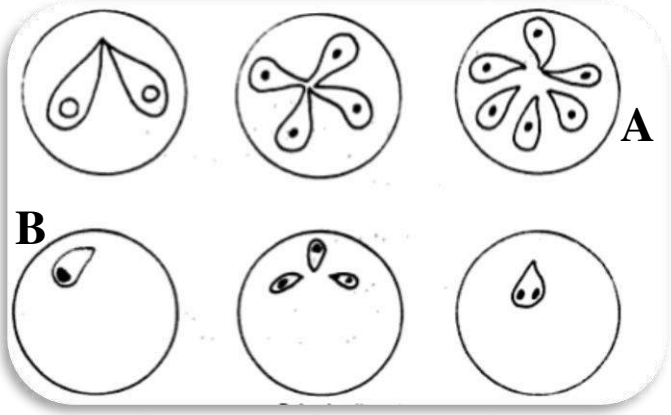
- *B. equi:* fiebre, anemia e ictericia evidente, orina de color vino, edema de las patas y cara ventral del cuerpo; hay constipación y las heces pueden estar cubiertas de moco; hemorragia de mucosas nasal, ocular, vaginal; bazo aumentado, ganglios linfáticos congestionados y en ocasiones aumentados de tamaño, afección a nivel del hígado y de los riñones.

Fig. 3.74. Visión Esquemática de *B. equi* (A) y *B. caballi* (B). Tomado de Barriga (2002)

3.7.2.6. *Babesia canis, Babesia gibsoni*

A. Afecta a: Caninos.
B. Morfología:
   - *B. canis*; forma piriforme, formando ángulo agudo, con un extremo en punta y el otro redondeado, normalmente en pares.
   - *B. gibsoni*; varía mucho de forma, pero es reconocible por la forma de pera.

Fig. 3.75. Visión Esquemática de *B. canis* (A) y *B. gibsoni* (B). Tomado de Barriga (2002)



C. Tamaño:
   - *B. canis:* 2-5µ de largo x 2,5µ de ancho.
   - *B. gibsoni:* pequeñas.
D. Localización: Eritrocitos.
E. Transmisión/Vector: *Rhipicephalus sanguineus.*
F. Cuadro Clínico:
   - *B. canis:* anemia hemolítica, anorexia, letargia, ictericia, hepato-esplecnomegalia; manifestaciones circulatorias como edema, purpura ascitis. A veces problemas respiratorios como catarro y disnea, a nivel ocular hay queratitis e iritis; problemas de dolor muscular y reumatoide; algunas veces afecta el sistema nervioso y aparecen problemas en la locomoción con paresia.
     - Agudo: fiebre, anemia, ictericia, inapetencia, decaimiento, postración y muerte; hemoglobinuria no siempre está presente.
     - Crónico: fiebre no muy marcada, poca ictericia, anemia severa, animales decaídos y emaciados.
   - *B. gibsoni*; enfermedad más crónica, y no hay marcada tendencia a la ictericia.

Fig. 3.76. *B. canis*

G. Hallazgos de Laboratorio: anemia hipocrómica, anemia regenerativa, trombocitopenia, leucocitosis.
   - *B. canis:*
     - En casos agudos; es posible observarlo en el frotis; mientras que en casos crónicos; estos son escasos y a menudo no se ven.
     - Disminución del número de eritrocitos.
     - Hemoglobina baja.
     - Leucocitos en grados variables, asociada a neutrofilia.
     - A nivel del frotis se observan: eritrocitos nucleados, poiquilocitosis, anisocitosis, policromatofilia, cuerpos de Howell-Jolly.

3.7.2.7. *Babesia felis*

A. Afecta a: Felinos.
B. Morfología: forma redonda o irregular, alargada o de pera; se ven en grupos, en forma de cruz de malta.
C. Tamaño: 1.5-4µ.
D. Localización: Eritrocitos.
E. Transmisión/Vector: *Rhipicephalus sanguineus.*
F. Cuadro Clínico: sintomatología similar a la infección con *M. haemofelis*, por lo que causa mucha confusión.

3.7.3. ANAPLASMOSIS

Es una enfermedad causada por Rickettsias del genero Anaplasma que parasita a rumiantes mayormente, pero otras especies de Anaplasmas pueden infectar a equinos y caninos. El organismo se produce en los eritrocitos, leucocitos o plaquetas de la sangre y se transmite por medios naturales a través de diversas especies de hematófagos; también se puede transmitir de forma iatrogénica en procedimiento como descuerne, castración, tatuaje, instrumentos y agujas hipodérmicas que no están desinfectados entre usos.

❖ TAXONOMIA según Bergey (2005)

- Reino: *Bacteria*
- Phylum: *Proteobacteria*
- Clase: *Alphaproteobacteria*
- Orden: *Rickettsiales*
- Familia: *Anaplasmataceae*
- Género: *Anaplasma*
- Especie: *Anaplasma marginale, Anaplasma centrale, Anaplasma ovis Anaplasma phagocytophilum* y *Anaplasma platys*

3.7.3.1. *Anaplasma marginale*

Llamados cuerpos marginales, son condensaciones de material cromatinico que se tiñen de azul obscuro con Giemsa y que no tienen citoplasma; el número de cuerpos de *Anaplasmas* puede variar de 1-7 por eritrocito. La falta de hallazgos de cuerpos de *Anaplasmas* en el frotis no elimina como diagnostico posible, ya que pueden ser indetectables en algunos casos antes de haber corregido la anemia (Medway *et al*. 1973).

Los cuerpos de *Anaplasma* se distinguen de los cuerpos de Howell-Jolly por su situación en la periferia del eritrocito, la apariencia de halo que los rodea y que no son tan suavemente redondeados como los cuerpos de Howell-Jolly. Los cuerpos de *Anaplasma* como los de Howell-Jolly se mantendrán enfocados mientras se enfoque bien el borde del eritrocito, en tanto que la luz se recogerá hacia el centro de los artefactos por poco que se desenfoquen (Benjamin 1962).

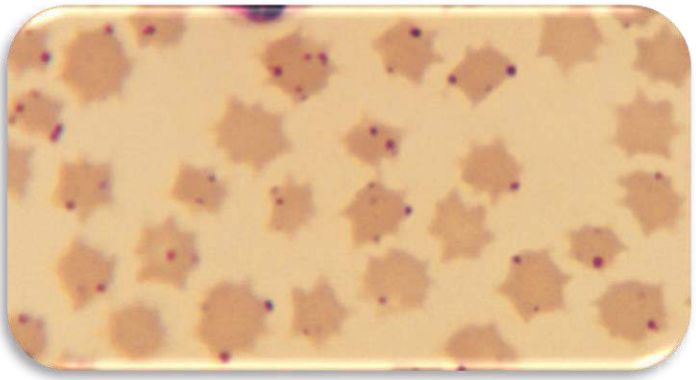


Fig. 3.77. *A. marginale*

A. Afecta a: Bovinos.
B. Morfología: pequeña masa densa, esférica y desprovista de citoplasma.
C. Tamaño: 0.2-0.9µ.
D. Localización: en la periferia de los eritrocitos o cerca de ella.
E. Transmisión/Vector: *Boophilus microplus.*
F. Cuadro Clínico: inapetencia y una marcada pérdida de peso, disnea intensa, pirexia, anemia aguda y a medida que avanza se observa ictericia; no hay hemoglobinuria pero la orina puede aparecer de color marrón, aumento de tamaño del bazo e hígado, trastornos digestivos (heces oscuras, sangre y moco), andar rígido, temblores musculares, abortos (hipoxia fetal).
G. Hallazgos de Laboratorio:
    - Plasma ictérico.
    - Valores de Hemoglobina pueden descender hasta 3 g/dl en casos graves.
    - Cuenta de eritrocito y Hematocrito no son afectados hasta que los cuerpos de Anaplasma son visibles en los frotis.
    - Caída rápida de los valores de Hematocrito, termina con la aparición de macrocitos en la sangre circulante.
    - Durante la manifestación clínica de la enfermedad el conteo de eritrocitos será aproximadamente de 4 millones/mm^3, pero bajara hasta 2 millones/mm^3 en casos graves.
    - Una vez pasado la cúspide de la infección se presentan eritrocitos nucleados, policromatofilia, cuerpos de Howell-Jolly y punteado basófilo; lo que indica aumento de la actividad de la medula ósea.
    - Leucocitosis y aumento de leucocitos maduros.

3.7.3.2. *Anaplasma centrale*

A. Afecta a: Bovinos.
B. Morfología: similar al *A. marginale.*
C. Tamaño: de tamaño similar al *A. marginale.*
D. Localización: porción central de los eritrocitos.
E. Transmisión/Vector: *Boophilus microplus.*
F. Cuadro Clínico: enfermedad leve, a veces no manifiesta.

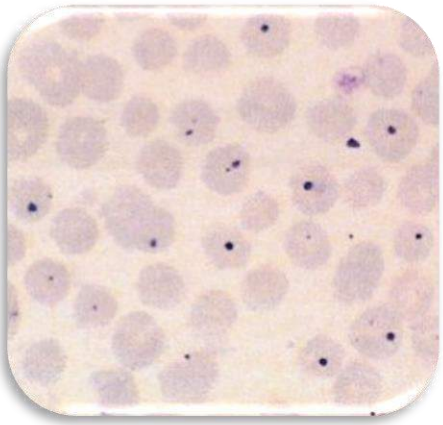


Fig. 3.78. *A. centrale*

3.7.3.3. *Anaplasma ovis*

De rasgos similares a los de *A. marginale*, con excepción que solo parasite a ovinos y en ocasiones a caprinos; pero nunca a bovinos.

A. Afecta a: Ovinos y Caprinos.
B. Morfología: idéntica a la del *A. marginale.*
C. Tamaño: idéntico al *A. marginale.*
D. Localización: Eritrocitos.
E. Transmisión/Vector: *Boophilus spp., Dermacentor spp.*
F. Cuadro Clínico: grados variable de anemia subclínica.

3.7.3.4. *Anaplasma phagocytophilum*

Son bacterias intracelulares obligadas gram negativas, anteriormente conocido como *Ehrlichia phagocytophilum.*

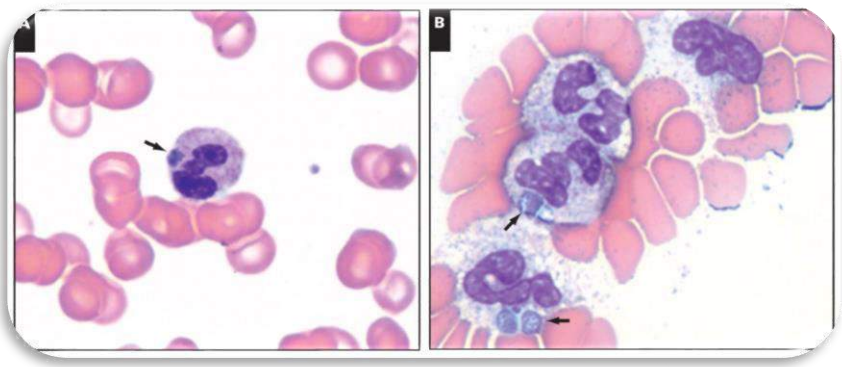


Fig. 3.79. *A. phagocytophilum*

A. Afecta a: Equinos, Caninos, Bovinos.
B. Morfología: son microorganismos pequeños pleomorficos en formas bacilares o cocoide con ausencia de flagelos. Se hallan en grupos en forma de mórulas.
C. Tamaño: 0.2-1µ.
D. Localización: Neutrófilos (Granulocitos).
E. Transmisión/Vector: garrapatas de la familia *Ixodidae* (*Ixodes spp.* y *Rhipicephalus sanguineus*).
F. Cuadro Clínico: muy variable, como vómitos, diarreas, dolor e inflamación de las articulaciones, pirexia, depresión o letargo, pérdida de peso por pérdida del apetito, trastornos hemorrágicos (epistaxis, hematuria, equimosis o petequias), infección y/o daño de los riñones o el hígado; en infecciones severas, pueden presentarse problemas neurológicos como dolor de cuello, convulsiones y ataxia.
G. Hallazgos de Laboratorio: anemia regenerativa, trombocitopenia, leucocitosis, leucopenia leve seguida por leucosis transitoria.

3.7.3.5. *Anaplasma platys*

Es una bacteria gram negativa intracellular obligada, anteriormente conocido como *Ehrlichia platys*, se le conoce como Trombocitopenia Ciclica Infecciosa Canina. Actualmente, el diagnóstico se basa en la demostración al microscopio de inclusiones basofílicas en plaquetas mediante tinción de Giemsa teñidas de azul en el frotis sanguíneo. La detección de la mórula en plaquetas consume mucho tiempo y, usualmente, no es satisfactoria, sobre todo en casos crónicos por la aparición cíclica de las bacterias en las plaquetas (Foglia *et al.* 2006 y Ramos *et al.* 2009).

Fig. 3.80. Dos Plaquetas con *A. platys*

A. Afecta a: Caninos.
B. Morfología: forma de inclusiones basofilas, como mórulas, formadas por una o varias subunidades.
C. Tamaño: 0.3-0.5µ.
D. Localización: Trombocitos (Plaquetas).
E. Transmisión/Vector: *Rhipicephalus sanguineus.*

F. Cuadro Clínico: por lo general no muestran signos clínicos relevantes, a no ser que exista co-infección con *E. canis*. Sin embargo algunos han reportado fiebre, anorexia, depresión, pérdida de peso, mucosas pálidas, hemorragia leve, descarga nasal mucopurulenta.
G. Hallazgos de Laboratorio: trombocitopenia con macrotrombocitos, anemia normocitica a macrocitica, así como hipocrómica y monocitosis; descenso de hemoglobina hasta hemoglobina de 9,4 g/dl y del hematocrito hasta 32%.

3.7.4. MYCOPLASMOSIS (Hemoplasmosis)

Son bacterias que carecen de pared celular y se tiñen de azul; los *Mycoplasmas* miden generalmente menos de 1µ, y por tanto, son difíciles de detectar con un microscopio convencional. Es común los falsos positivos, por confusión con los cuerpos de Howell-Jolly y precipitación de la tintura (Villiers y Blackwood 2005).

❖ TAXONOMIA según Bergey (2005)

- Reino: *Bacteria*
- Phylum: *Tenericutes*
- Clase: *Mollicutes*
- Orden: *Mycoplasmatales*
- Familia: *Mycoplasmataceae*
- Género: *Mycoplasma*
- Especie: *Mycoplasma haemocanis* y *Mycoplasma Haemofelis*

3.7.4.1. *Mycoplasma haemocanis*

Anteriormente conocido como *Haemobartonella canis*. Rara vez causa franca enfermedad en perros sanos, los animales exhiben cuerpos de *M. haemocanis* en el frotis solo después de la esplenectomía. (Benjamin 1962)

A. Afecta a: Caninos.
B. Morfología: pleomorficos, y pueden presentarse sueltos, por pares o más frecuentemente se ven como cadenas de cuerpos cocales, las cuales poseen hasta 12 o más cuerpos cocales; también hay formas simples como cocos, bacilares, anulares y de arco de violín.
    - La forma de bastón puede ser recta, curva o ramificada.
C. Tamaño:
    - Formas redondas: 0.5µ.
    - Formas de bastones: 1-5µ de largo x 2µ de ancho.
D. Localización: Eritrocitos
E. Transmisión/Vector: *Rhipicephalus Sanguineus.*
F. Cuadro Clínico: asintomático, sin relevancia clínica; a menos que haya co-infección o este esplenectomizado. Se caracteriza por anemia profunda; en perros esplenectomizados se desarrolla anemia con rapidez, anemia y malestar grave se ven si ocurren con *B. canis.*
G. Hallazgos de Laboratorio:
    - Perros No Esplecnotomizados:
        - No se ve ningún cuerpo de *M. haemocanis.*

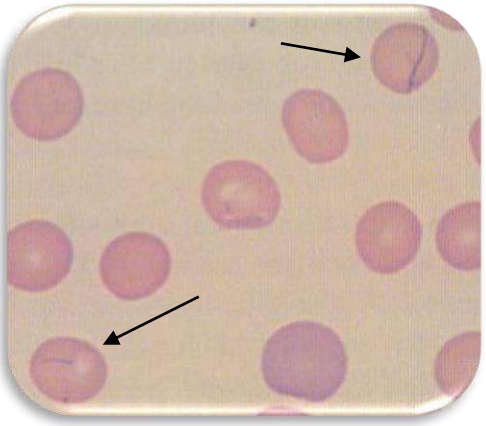


Fig. 3.81. ***M. haemocanis***

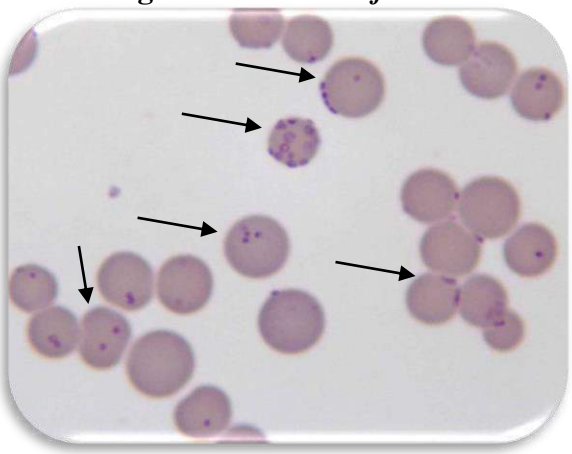
- Perros Esplecnotomizados:
  - Forma aguda:
    - En el frotis se observan cuerpos de *M. haemocanis*, constantemente.
  - Forma crónica:
    - Se ve cuerpos de *M. haemocanis* en los frotis con cierta periocidad.
    - Descenso notable de la cuenta de eritrocitos (llega a tan solo 900,000/mm^3), Hematocrito bajo (hasta un 9%), y Hemoglobina hasta unos 2 g/dl.
    - En el periodo de anemia se aprecian: eritrocitos nucleados, policromatofilia, anisocitosis y cuerpos de Howell-Jolly.
    - En el periodo de convalecencia se aprecia: una macrocitosis.
    - Cuenta de leucocitos puede variar de normal a subnormal, en el periodo que hay presencia de *M. haemocanis* en los frotis.
    - Leucopenia, asociada a depresión de todos los tipos de células hemáticas.

3.7.4.2. *Mycoplasma Haemofelis*

Anteriormente conocido como *Haemobartonella felis*; también conocida como Anemia infecciosa felina. En algunos eritrocitos, pueden observarse al culminar la infección 5 o más formas *M. haemofelis*, fuera de esta etapa las formas pueden ser 1 o muchas.

A. Afecta a: Felinos.
B. Morfología: organismos pleomorficos en formas de globo, de bastón, anillo.
   - Las formas de bastón se ven frecuentemente en la periferia; pueden presentarse sueltos, por pares o en cadenas.

Fig. 3.82. *M. haemofelis*



C. Tamaño: 0.6µ las formas redondas.
D. Localización: Eritrocitos (adheridos a la superficie de los mismos).
E. Transmisión/Vector: vectores artrópodos como garrapatas, pulgas, piojos o mosquitos.
F. Cuadro Clínico: enfermedad caracterizada por anorexia, depresión, taquipnea, taquicardia, pérdida de peso o emaciación, anemia moderada a severa, ictericia, esplenomegalia, pirexia en gatos enfermos e hipotermia en gatos moribundos.
G. Hallazgos de Laboratorio:
   - En estados agudos, el número de *M. haemofelis* fluctúa considerablemente; por lo que es necesario realizar exámenes repetidos para descubrir al microorganismo en el frotis sanguíneo.
   - Anemia regenerativa, Trombocitosis.
   - Los Eritrocitos disminuyen rápidamente durante la invasión e inmediatamente después de ella, variando los valores entre 1-5 millones/mm^3.
   - Valores de Hematocrito bajan hasta un 18%, y la Hemoglobina suele bajar hasta 7 g/dl.
   - Los índices eritrocitarios indican eritrocitos macrociticos normocrómicos, con V.C.M. aumentado y C.M.H.C. dentro de los valores de referencia.
   - Se aprecian: eritrocitos nucleados, anisocitosis, policromatofilia y cuerpos de Howell-Jolly.

- Debe recordarse que los cuerpos de Howell-Jolly se encuentran en gran número de forma normal en los eritrocitos de los gatos sanos, y no deben confundirse con los cuerpos de *M. haemofelis.* (Medway, Prier, Wilkinson; 1973)

- El cuadro leucocitario puede variar: desde una leucocitosis, hasta encontrar una cuenta normal o leucopenia; también se puede encontrar neutrofilia y monocitosis.

3.7.5. EHRLICHIOSIS

Son bacterias intracelulares obligadas gram negativas, pleomorficas principalmente cocoides pequeños en grupos de organismos denominados mórulas. En casos de alta mortalidad, es frecuente la infección mixta (Medway *et al*. 1973).

❖ TAXONOMIA según Bergey (2005)

- Reino: *Bacteria*
- Phylum: *Proteobacteria*
- Clase: *Alphaproteobacteria*
- Orden: *Rickettsiales*
- Familia: *Anaplasmataceae*
- Género: *Ehrlichia*
- Especie: *Ehrlichia canis*

Fig. 3.83. *E. canis*

3.7.5.1. *Ehrlichia canis*

A. Afecta a: Caninos, Felinos.
B. Morfología: grandes inclusiones homogéneas, redondeadas, que se tiñen de lila intenso; que en conjunto forman de mórulas.
C. Tamaño: cada cuerpo cocoide mide 0.5µ de diámetro.
D. Localización: en el citoplasma de los Leucocitos (Monocitos, macrófagos y granulocitos).
E. Transmisión/Vector: *Rhipicephalus sanguineus.*
F. Cuadro Clínico: patogenicidad moderada o grave.
   - Fase aguda: fiebre, anorexia, depresión, linfoadenopatia, esplenomegalia, secreción óculo-nasal, uveítis, hipema (sangre en la cámara anterior del ojo), desprendimiento de retina, ceguera, signos del S.N.C., disnea, vasculitis, petequias/equimosis y hemorragia (epistaxis), edema de las extremidades y el escroto.
   - Fase crónica: se asocia con signos ambiguos de enfermedad y pérdida de peso; aunque puede presentarse neumonía intersticial, fallo renal, artritis y muerte, como consecuencia de las hemorragias y complicaciones por dichas infecciones secundarias; así como anemia moderada a severa, hepatomegalia moderada, esplenomegalia presente.
G. Hallazgos de Laboratorio:
   - Aguda: trombocitopenia, leucopenia, anemia moderada usualmente normocitica normocrómica.
   - Crónica: pancitopenia severa como la característica principal, linfocitosis.

Fig. 3.84. *E. canis* en un Monocito

3.7.6. HEPATOZOONOSIS

Es una enfermedad parasitaria producida por un coccidio, cuya infección ocurre por la ingestión de artrópodos hematófagos. Frotis que no son realizados rápidamente luego de la extracción, solo se observan las capsulas de los gametocitos (Vignau *et al.* 2005).

Según Vignau, et al; 2005 el desarrollo de Hepatozoonosis está asociado con el estado inmunitario del animal, las infecciones inaparentes son frecuentes y se han propuesto diferentes condiciones para que desarrolle y produzca sintomatología: Defectos genéticos en los neutrófilos, Inmadurez del sistema Inmune en animales menores de 4-6 meses, Condiciones o terapias inmunosupresoras y Co-infecciones con *Toxoplasma gondii*, *Babesia canis*, *Ehrlichia canis*, Parvovirus, Distemper.

❖ TAXONOMIA según Baneth *et al.* (2006)

- Reino: *Protista*
- Subreino: *Protozoa*
- Phylum: *Apicomplexa*
- Clase: *Telosporasida*
- Subclase: *Coccidiasina*
- Orden: *Eucoccidiorida*
- Suborden: *Adeleorina*
- Familia: *Haemogregarinidae*
- Género: *Hepatozoon*
- Especie: *Hepatozoon canis*

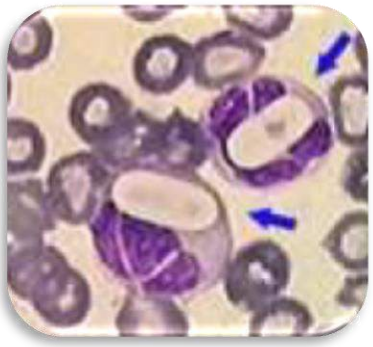


Fig. 3.85. Gamontes de *H. canis*

3.7.6.1. *Hepatozoon canis*

A. Afecta a: Caninos, Felinos.
B. Morfología: cuerpos ovales, denominados gamontes o gametocitos
   - los ooquistes esporulados están formados por varios esporocistos que contienen a su vez 12-24 esporozoitos cada uno.
C. Tamaño: 11x5µ.
D. Localización: gamontes en el citoplasmas de Neutrófilos y Monocitos.
E. Transmisión/Vector: *Rhipicephalus sanguineus.*
F. Cuadro Clínico: fiebre, caquexia, depresión, atrofia muscular generalizada, anemia moderada a severa, descarga óculo-nasal, hepato-esplecnomegalia, hiperestesia (notablemente en la región lumbar), agrandamiento de los ganglios linfáticos.
G. Hallazgos de Laboratorio:
   - Anemia normocitica y normocrómica no regenerativa: por deficiencia en el metabolismo del hierro; a veces puede ser regenerativa e incluso contener algún componente hemolítico.
   - Leucocitosis con marcada neutrofilia, en algunos casos monocitosis y/o eosinofilia; asi como también basofilia.
   - Hiperproteinemia: caracterizada por hiperglobulinemia con hipoalbuminemia.

CAPITULO IV.

URIANALISIS

El análisis de orina es una prueba de laboratorio simple, no invasiva y económica; y que consiste en la evaluación de las propiedades físico-químicas de la orina, la estimación de la concentración de sus solutos, y el examen microscópico del sedimento. Indicado tanto en pacientes con sospecha de enfermedad del sistema urinario como en pacientes con desordenes no urinarios, ya que aporta información de varios sistemas corporales (Núñez y Bouda 2007).

Los resultados del urianalisis son válidos pero no infalibles, y su valor diagnóstico es directamente proporcional a la capacidad que se tenga para interpretarlos.

El urianalisis está indicado en las siguientes situaciones:

- Ayuda en el diagnóstico diferencial de enfermedades renales y otras enfermedades.
- Diagnóstico de varias enfermedades y trastornos en etapas subclínicas.
- Monitoreo de enfermedades.
- Monitoreo de eficacia y seguridad de tratamientos.
- Parte del examen pre-quirúrgico.
- Se realiza en todos los animales enfermos, con problemas urinarios, y con pérdida de peso corporal.

El Urianalisis, consta de 3 exámenes que se realizan en un orden específico, para que los resultados sean lo más fiable posible. El orden en que se realiza es el que sigue:

- Examen Físico (Color, Olor, Transparencia y Viscosidad).
- Examen Químico (Densidad, pH, Proteína, Glucosa, Cuerpos Cetonicos, Bilirrubina, Urobilinogeno, Nitritos, Sangre y Leucocitos).
- Examen del Sedimento Urinario (Estructuras Organizadas, Estructuras No Organizadas).

El Examen Físico y Químico es rápido, sencillo, económico en comparación con otras pruebas y es una herramienta básica. Por medio de una tira reactiva (prueba de campo) se puede mejorar el diagnóstico, especialmente de enfermedades en estadios subclínicos. El examen del sedimento por lo general se realiza en el laboratorio.

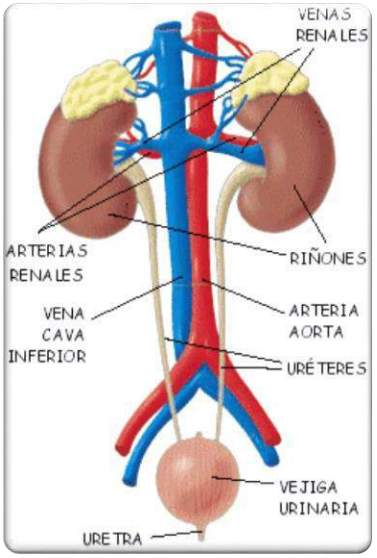


Fig. 4.1. Esquema del Aparato Urinario

4.1. GENERALIDADES

La Orina es un líquido orgánico de desecho elaborado por los riñones durante su función como Órganos Reguladores del Medio Interno. La orina se forma a partir del plasma que circula por los riñones al entrar en función los tres mecanismos de intercambio de las nefronas, que son: la filtración glomerular, la secreción y la reabsorción tubular. Si alguno de los mecanismos antes mencionados se ve afectado, habrá una variación en la composición de la orina (Messeguer *et al*. 1992).

Los Riñones tienen una gran importancia en el mantenimiento del Equilibrio Hídrico y Electrolítico, Equilibrio Acido-Básico y Presión Osmótica de los Líquidos Orgánicos. También participan en la eliminación de productos del catabolismo y ciertas sustancias toxicas; estas funciones se llevan a cabo mediante procesos de filtración selectivos que tienen lugar en los glomérulos. Debido al complicado proceso fisiológico de elaboración de la Orina, esta se puede alterar, no solo por enfermedades propias del Riñón, sino también por numerosas causas Extrarenales (Messeguer *et al*. 1992).

4.2. EXAMEN FÍSICO

Fig. 4.2. Muestra de Orina en un Tubo para Centrifuga Punta Cónica

El examen físico se basa en la evaluación del Color, Olor, Transparencia y Viscosidad de la orina.

4.2.1. Color

Generalmente es de color amarillo claro debido a la presencia de pigmento urocromo (derivado de la degradación de hemoglobina y mioglobina) y pequeñas cantidades de uroeritrina (degradación de la hemoglobina) y urobilina. El caballo puede mostrar color semejante a lechada de azufre o a cerveza, debido a la abundancia de carbonatos cálcicos (Messeguer *et al.* 1992).

El color varía de acuerdo a la cantidad de pigmento contenida y es usualmente proporcional a la concentración. La orina se va haciendo pálida si aumenta de volumen y, a la inversa su color es más intenso si la cantidad es escasa o la orina queda retenida; la orina muy diluida, consecutiva a ingestión copiosa de agua, suele ser casi incolora.

La orina puede tener casi cualquier color y estos cambios de coloración no son siempre indicativos de anormalidad, pues el color puede ser resultado de un proceso patológico, presencia de una droga o sus metabolitos, determinados alimentos. Es importante conocer la causa de la variación del color porque enmascara signos patológicos y puede alterar la valoración de otras pruebas.

Fig. 4.3. Variaciones de Color que se pueden dar en una Muestra de Orina

❖ **Procedimiento**

Observe el color de la orina, ya sea directamente en el frasco con la muestra o en un tubo de ensayo o probeta, y se consigna el color de la siguiente forma:

- ✓ Orina Incolora
- ✓ Orina Amarilla Intensa
- ✓ Orina Roja o Rosada
- ✓ Orina Parda (cerveza negra)
- ✓ Orina Negruzca
- ✓ Orina Lechosa
- ✓ Orina Verde o Azulada
- ✓ Orina Turbia

Cuadro 4.1. Interpretación de los Cambios de Color en la Orina

Color de la Orina	Interpretación
Orinas Incoloras Orina diluida, poco densa; relacionado con poliuria	• Grandes diuresis por mercuriales • Diabetes insípida (densidad baja) • Insuficiencia renal avanzada • Nefritis intersticial crónica • Ingestión de agua o soluciones en exceso
Orinas Amarillas Intensas Orina concentrada, muy densa y escasa	• Ictericia, cualquier sea su origen (luego evoluciona a rojo parduzco y más tarde a verdoso o negro) • Anemia perniciosa • Anemia hemolítica • Nefritis aguda • Ingestión escasa de fluidos • Deshidratación • Vómitos prolongados o diarreas
Orina Roja o Rosada	• Oligurias febriles infecciosas • Oligurias de las insuficiencias cardiacas congestivas • Hematurias (Orinas Nebulosas) o hemoglobinurias (Orinas Traslucidas) • Anemia perniciosa • Anemia hemolítica • Ingestión copiosa de remolachas, setas, alimentos teñidos con anilinas y alimentos tratados con fucsina, cascara sagrada • Algunos medicamentos como fenotiazina, neoprontosil, fenolftaleina
Orina Parda (cerveza negra)	• Ictericias parenquimatosas y mecánicas • Hematurias por Glomerulonefritis aguda • Metahemoglobinurias: intoxicación por clorato de potasio, nitritos, anilinas
Orina Negruzca	• Melanosarcomas y otros tumores mecánicos • Alteración del metabolismo de la tirosina • Hematurias graves • Intoxicación por acido fenico y derivados
Orina Lechosa	• Quiluria (liq. Linfático en la orina) • Lipurias masivas (hiperlipemia esencial o sintomática, diabetes grave, pancreatitis crónica)

	• Piurias marcadas
Orina Verdosa o Azulada	• Ictericias antiguas • Intoxicación por timol • Eliminación de azul de metileno, acriflavina • Pigmentos biliares (sacudiéndola da espuma verdosa)
Orina Turbia	• En todas las Piurias • Fosfaturias • Orinas fermentadas

Fuente: Benjamin (1962) y Messeguer *et al*. (1992)

4.2.2. Olor

La orina excretada tiene un olor característico en cada especie; siendo que en los carnívoros es un olor fuerte, más bien desagradable a caldo de carne o aliáceo; en equinos es de un olor aromático fuerte, así como también en rumiantes pero menos fuerte; en los porcinos es un olor fuerte y desagradable.

❖ **Procedimiento**

Se procede a realizar la identificación del olor de la orina, ya sea directamente en el frasco con la muestra o en un tubo de ensayo o probeta; acercando rápidamente la muestra a la nariz.

❖ **Interpretación**

Existen olores que nos dan indicio de alteraciones, como son:

- Amoniacal: cistitis y otros procesos inflamatorios de las vías urinarias, orinas conservadas en recipientes cerrados a temperatura ambiente y sin conservantes.
- Fétido: presencia de abundante pus, pielonefritis (consecuencia de la descomposición del pus, cilindros y coágulos mezclados con la orina).
- Pútrido: destrucción de tejidos
- Olor a Frutas Maduras: cetosis de la vaca, gestación patológica, diabetes glucosúrica, ascaridiasis de terneros y corderos.
- Olor a ciertos medicamentos: acido fenico, alcanfor, aceite de trementina.

4.2.3. Transparencia

Normalmente la orina que no contiene elementos formes, es clara. Los cristales urinarios, los filamentos de moco, las bacterias, los cilindros tubulares, las células epiteliales, los leucocitos y los glóbulos rojos, cuando están presentes, producen diversos grados de opacidad. La orina varia según la especie animal de la que se trate; donde en los carnívoros es clara y trasparente, en equinos es turbia y opaca debido a la cantidad de carbonato cálcico en suspensión, y en rumiantes es transparente al ser emitida, volviéndose opaca con el tiempo debido a que se separa el carbonato cálcico (Messeguer *et al*. 1992).

❖ **Procedimiento**

Obsérvese la orina, ya sea directamente en el frasco con la muestra o en un tubo de ensayo o probeta. La transparencia de la orina se consignan, ya sea Clara o Nebulosa/Turbia.

❖ **Interpretación**

- Clara:

La orina recién evacuada por el animal es comúnmente clara, salvo en el caballo que es normalmente espesa y nebulosa, debido a cristales de carbonato de calcio y mucus. La transparencia o claridez de la orina puede ser anormal en toda poliuria y en equinos con orina acida.

- Nebulosa/Turbia:

No es necesariamente patológica, ya que muchas muestras de orina se vuelven nebulosas al cabo del tiempo.

Las causas de turbidez de la orina siempre debería identificarse microscópicamente. Entre las casusas de turbidez tenemos los siguientes:

- Células epiteliales.
- Sangre (color que va del rojo al castaño, y humosa).
- Leucocitos (aspecto lechoso, glutinoso).
- Nefritis y nefrosis intensas (enturbiamiento en forma de hilos, cilindros).
- Pielonefritis bacterianas (masas espesas gelatinosas en la orina).
- Bacterias (turbidez uniforme, la cual no se sedimenta ni puede quitarse por filtración).
- Mucus, exudado o pus procedente de procesos inflamatorios de las vías urinarias y órganos genitales que comunican con ellos.
- Cristales:
  - ✓ Carbonato de calcio: en orina fresca de caballo o en orina de los bovinos al cabo de algún tiempo de emitida.
  - ✓ Uratos amorfos: una nube blanca o de color rosa en la orina acida al cabo de un tiempo, o bien al enfriarla rápidamente.
  - ✓ Fosfatos amorfos: una nube blanca en la orina alcalina.

4.2.4. Viscosidad

La viscosidad en la orina varía según la especie animal de la que se trate, en equinos es viscosa debido al alto contenido en mucina procedente de las glándulas de la pelvis renal y uréteres; mientras que en rumiantes, porcinos y carnívoros es de escasa viscosidad, fluida y semejante al agua (Messeguer *et al.* 1992).

Fig. 4.4. Diferencias en la Viscosidad

❖ **Procedimiento**

La viscosidad se mida, vertiendo la orina lenta y cuidadosamente por el borde del vaso con la muestra, y observando como fluye.

❖ **Interpretación**

La consistencia anormal se produce como consecuencia de residuos procedentes de reacciones inflamatorias del aparato urinario; así como a la mayor o menor presencia de sustancias coloidales.

Los tipos de consistencia apreciables en la orina son:

- Acuosa.
- Espesa o filamentosa.
- Mucosa.
- Gelatinosa.

4.3. EXAMEN QUÍMICO

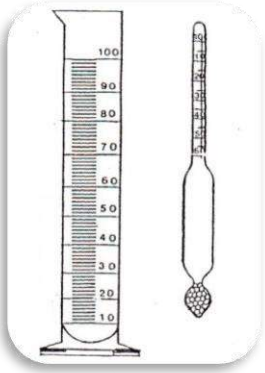
4.3.1. Densidad

Es el peso o densidad de un volumen medido de una sustancia, expresado en relación con el mismo volumen de agua pura. Significa la relativa cantidad de sólidos en solución. La densidad o peso específico de la orina expresa la capacidad que tiene el riñón para concentrar y diluir el filtrado glomerular (Duncan Prasse 2005).

La densidad de la orina aumenta con la concentración de material disuelto en ella; en una orina normal este material consiste principalmente en electrolitos y desechos nitrogenados como urea y creatinina.

❖ **Procedimiento**

Fig. 4.5. Urinometro. Tomado de Messeguer *et al.* (1992)



A. Por Urinómetro:

1. Llénese el cilindro del Urinómetro hasta las ¾ partes aproximadamente.
   - ✓ El recipiente que se use para la flotación del urinómetro, debe ser lo suficientemente grande para evitar la adherencia del urinómetro a la pared.
2. Colocar el Urinómetro en la orina y hacer girar, a fin de separarlo de la pared y del fondo del cilindro.
3. Leer la escala en el cuello del Urinómetro, a ras de la superficie libre del líquido y dar la lectura en decimales.

➢ Desventajas:

- Se necesita una muestra relativamente grande de orina (10 a 15 ml).
- Dificultad ocasional para hacer la lectura en el menisco.
- Frecuente adherencia del urinometro a la pared de la probeta.
- Un error positivo de .001 por cada 3 grados de aumento de la temperatura por encima de 16ºC, pues solo está calculado a esta temperatura (Messeguer *et al.* 1992).

Si la cantidad de orina disponible es muy pequeña, la densidad puede determinarse por otros medios:

- Usar un Urinómetro miniatura y un tubo de vidrio delgado de centrifuga.
- Diluir la orina en agua destilada.
- Por medio de un Refractómetro de Golberg.

B. Por Refractómetro:

El índice de refracción es la relación del valor de la velocidad de la luz en el aire con el de la velocidad de la luz en la solución. Este número varia directamente con el número de partículas disueltas en la orina y como tal, varia igual que la densidad de la orina (Benjamín 1962).

Para realizar la medida basta con colocar una gota de orina sobre la superficie oscura, que tiene el aparato en uno de sus extremos. Se tapa con el cristal objetivo, y mirando por el ocular hacia un foco de luz,

observamos directamente la lectura sobre una escala graduada en la lente objetivo (Messeguer *et al*. 1992).

- Ventajas:

  - Reproduce datos confiables.
  - Alto grado de seguridad, y entre 15-38ºC no necesita correcciones debido a la temperatura.
  - Solo se precisan unas gotas de orina.

❖ **Interpretación**

a. Densidad Inferior al normal

- Nefritis intersticial crónica: debido a la incapacidad renal para concentrar la orina.
- Uremia, en casos avanzados.
- Diabetes Insípida: debido a la pérdida de hormona antidiurética.
- Ingestión excesiva de líquidos.
- Piometrio: por excesiva ingesta de agua.

b. Densidad Superior al normal

- Nefritis intersticial aguda: debido a la incapacidad para excretar agua.
- Cistitis: se adiciona a la orina productos de la reacción inflamatoria.
- Ingestión escasa de fluidos.
- Deshidratación.
- Vómitos y diarreas, si son prolongados.

Como norma general, aparecen Orinas Hiperdensas cuando el volumen esta disminuido y Orinas Hipodensas cuando el volumen esta aumentado (Benjamín 1962).

Cuadro 4.2. Clasificación de las Alteraciones Urinarias teniendo en cuenta Volumen y Densidad

Poliuria Hiperdensa	Poliuria Hipodensa	Oliguria Hipodensa	Oliguria Hiperdensa

• Diabetes sacarina.	• Crónicamente
	  ○ Diabetes insípida
	  ○ Poliuria compensadora de la insuficiencia renal crónica
	  ○ hiperparatiroidismo
	• Pasajeramente
	  ○ Fase poliúrica de la insuficiencia renal aguda
	  ○ Fase de defervescencia de una neumonía
		• Indica nefropatía
		• Fase inicial de insuficiencia renal aguda y crónica
			• Deshidratación de cualquier origen
			• Insuficiencia circulatoria
			• Hipersecreción de hormona antidiurética

Fuente: Messeguer *et al*. (1992)

4.3.2. Concentración de Hidrogeniones (pH)

La sigla "pH" significa 'potencial de hidrógeno' o 'potencial de hidrogeniones', este término fue acuñado por el químico danés S. P. L. Sørensen (1868-1939), quien lo definió como el opuesto del logaritmo en base 10 (o el logaritmo del inverso) de la actividad de los iones hidrógeno. Desde entonces, el término "pH" se ha utilizado universalmente por lo práctico que resulta para evitar el manejo de cifras largas y complejas.

El pH indica la concentración de iones hidronio (H3O+) presentes en determinadas sustancias. Es una medida de acidez o alcalinidad de una disolución (Benjamín 1962).

Los riñones y los pulmones son los órganos principales en la regulación del equilibrio acido-base. Los pulmones eliminan dióxido de carbono, mientras que los riñones regulan la excreción de ácidos no volátiles, liberados durante el proceso metabólico normal de los tejidos. El pH de la orina de los animales sanos está influenciado por la composición del alimento y el metabolismo del animal (Messeguer *et al*. 1992).

En equinos y rumiantes la orina es alcalina, debido a la preponderancia de carbonatos alcalinos tras la combustión de sales de ácidos vegetales en el metabolismo), en carnívoros la orina es acida por el predominio de fosfatos monosódico y monocálcico; mientras que en los porcinos al ser omnívoros, la orina será acida cuando la dieta contenga grandes cantidades de proteína y cereales, y será orina alcalina cuando la dieta sea sobre todo con hidratos de carbono (Coffin 1952).

❖ **Procedimiento**

Mediante las siguientes técnicas o instrumentos:

1. pHmetro con electrodo de vidrio (método muy exacto, pero más cara y menos práctica en la práctica clínica).
2. Papeles absorbentes (indicadores acido-básico que toman color diferente según el pH de la orina).
3. Tiras indicadoras (llevan almohadillas correspondientes al pH).
   - ✓ contienen una combinación de indicadores rojo metilo y azul de bromotimoi que producen una serie de colores desde naranja (pH acido), hasta verde y azul (pH alcalino).

Se sumerge la tira reactiva al pH, anotándose el resultado de la reacción según lo indica el estándar. Los hallazgos en este sentido se consignaran en Acida, Alcalina o Neutra.

- Una técnica inadecuada con las tiras reactivas que determinen los parámetros químicos en conjunto, puede permitir que el tampón acido de la casilla de proteínas fluya adentro de la casilla de pH, dando un resultado de pH bajo falso (Duncan y Prasse 2005).

❖ **Interpretación**

El pH urinario determina los tipos de cilindros, cristales y urolitos que pueden formarse en la orina. Las alteraciones primarias de pH muchas veces expresan una situación anómala más que una enfermedad, debido a esto hay que tener en cuenta que estas variaciones pueden producirse después de que la orina ha sido eliminada (Duncan y Prasse 2005).

Entre algunos ejemplos tenemos:

- La alcalinidad de la orina, puede deberse a la retención de la misma en la vejiga con la consiguiente fermentación y formación de amoniaco.
- La orina se vuelve alcalina cuando se expone al aire, por ello siempre debe medirse en fresco.

A. Aciduria

- En las primeras fases de vida de los rumiantes (fisiológico).
- Acidosis metabólicas (diabetes mellitus, uremia, cetosis) y respiratorias.
- Medicación acidificante (cloruro de amonio, ácido mandelico cloruro sódico, cloruro cálcico, fosfato de sodio, metionina).
- Diarreas graves.
- Dietas excesivamente ricas en proteínas (aciduria transitoria).
- Procesos de adelgazamiento.
- Tras esfuerzos o fatiga excesiva.
- Excesivo catabolismo de proteínas corporales: Periodos de hambre, Procesos febriles, Diabetes mellitus, Insuficiencia renal crónica.

B. Alcaluria

- Retraso en el examen de las muestras y conservación de las mismas, pues se forma amoniaco a partir de urea.
- Fisiológicamente en herbívoros que ingieren dietas vegetales.
- En casi todos los casos que aparece alcalosis sistémica.
- Infecciones del tracto urinario (cistitis) asociadas con presencia de M.O. que transforman urea en amoniaco y bicarbonato.
- Medicamentos alcalinizantes (bicarbonato sódico, lactato sódico, citrato sódico, acetazolamida, nitrato sódico).
- Retenciones urinarias en la vejiga.
- Alcalosis metabólicas (vómitos, ingesta excesiva de bicarbonatos) o respiratorias (síndrome de hiperventilación).
- Acidosis renal tubular (los riñones son incapaces de eliminar iones de hidrogeno aunque exista una severa acidosis corporal).
- Autolisis bacteriana de los conductos renales.
- La orina alcalina contribuye a la formación de cálculos de carbonato cálcico, fosfato cálcico.
- La orina alcalina puede lisar glóbulos rojos y disolver cilindros túbulo-renales microscópicos.

Antes de continuar con otros análisis de tipo químico, debe hacerse una medición del pH y observar que si la orina es muy acida (pH 4) debe pensarse en una contaminación del frasco utilizado en la recolección; mientras que si la orina es muy alcalina se debe pensar en un excesivo crecimiento bacteriano. En cualquiera de estas situaciones no debe continuarse el análisis, pues la muestra es inapropiada para examinarla (Messeguer *et al*. 1992).

4.3.3. Proteína

En condiciones normales, la orina no contiene sustancias proteicas, al menos en cantidades suficientes para ponerlas de manifiesto con las técnicas analíticas de rutina (Coffin 1952).

La proteína que con mayor frecuencia se encuentra en orina son las que proceden del plasma sanguíneo y constituyen generalmente una mezcla de albuminas y globulinas. Debido a que la albumina plasmática tiene un peso molecular menor que la globulina, generalmente, predomina la albumina y la proteinuria se expresa indistintamente como albuminuria (Messeguer *et al*. 1992).

Ya que la importancia diagnostica de las diferentes proteínas es diferente, por orden de importancia podemos dividirlas en:

- Proteínas Verdaderas, son las proteínas coagulables o hemáticas: Albumina, Globulinas, Fibrinógeno.
- Falsas Proteínas:
  - Derivados de hidrólisis de proteínas: Albumosas, Proteosas, Peptosas.
  - Proteínas específicas: Albumina de Bence-Jones.
  - Otras Proteínas: Seudoalbumina, Albuminas espermáticas, Nucleoalbuminas, Mucoproteinas.

❖ **Procedimiento**

A. Prueba de Robert

Se basa en la precipitación de las proteínas por acido fuerte. Se procede de la siguiente forma:

1. Póngase 2 ml de reactivo de Robert en un tubo de ensayo.

♣ **Reactivo de Robert** según Benjamín (1962)
- Ácido Nítrico Concentrado: 1 parte
- Solución Saturada De Sulfato De Magnesio: 5 partes
  - 770 g en 1 lt de agua destilada.

2. Viértase 2 ml de orina clara, con ayuda de una pipeta de Pasteur sobre el reactivo, manteniendo el tubo inclinado, de modo que la orina se deslice despacio por la pared del tubo.
   - ✓ La orina nubosa deberá ser clarificada previamente por centrifugación y filtración.
3. Una prueba positiva se manifiesta por un anillo blanco en la zona de contacto, el cual deberá observarse contra un fondo negro.
4. Se consigna de la siguiente manera:

   a) Negativa. No aparece anillo en la zona de contacto (-)
   b) Indicios muy ligeros. Anillo apenas perceptible (±)
   c) Anillo estrecho perceptible claramente (+)
   d) Anillo más ancho y definido (++)
   e) Anillo muy ancho (+++)
   f) Anillo espeso y denso que ocupa la mayor parte de la capa de orina (++++)

B. Prueba Del Ácido Sulfosalicilico

Se basa en el principio de que el ácido precipita a las proteínas de forma irreversible, usando una Solución de Ácido Sulfosalicilico al 20%.

1. Se colocan 4-5 ml de orina clarificada en un tubo de ensayo.
2. Agregar 10 gotas de reactivo de ácido sulfosalicilico al 20%, mezclar bien.
3. Dejar reposar por 10 minutos y evaluar sobre un fondo negro.
4. La positividad de la reacción se observa al formarse un coagulo blanco que sedimenta rápidamente.

Pueden interferir y dar falsos positivos: cefaloridina, cefalotina, clorpromacina y promacina.

- Las pruebas que se describen dependen del principio de coagulación de proteína (seroalbumina y seroglobulina) por la acción de los ácidos. Debe utilizarse orina clara para estos exámenes; la orina turbia u opaca puede ser clarificada por filtración o por centrifugación. (Medway *et al*. 1973)

❖ **Interpretación**

a. Proteinuria Fisiológica o Funcional

Es pasajera, se atribuye a un aumento en la permeabilidad glomerular, causado por una congestión de los capilares; como en los casos de: Excesivo ejercicio muscular, Convulsiones, Excesiva ingestión de proteínas.

b. Proteinuria Orgánica

➢ Proteinuria Renal

- Nefritis: se debe a un aumento de la permeabilidad del filtro glomerular, y a exudados infecciosos.
  - Nefritis intersticial aguda (proteinuria y sedimento notables).
  - Nefritis intersticial crónica (ligera proteinuria, grumos presentes).
  - Pielonefritis (proteinuria notable, leucocitos y eritrocitos).
- Nefrosis: trastornos degenerativos.
  - Congestión pasiva del riñón (cantidad de proteína y sedimento en el tubo, escasos).
  - Descompensación cardiaca.
  - Presión sobre las venas abdominales debida a ascitis o tumores.
  - Fiebre o toxemia (tumefacción o degeneración tubular, procede de una proteinuria benigna y transitoria).
  - Intoxicación por drogas o productos químicos (con notable proteinuria).
    - ✓ entre estos tenemos: mercurio, plomo, bismuto, trementina, fenol, arsénico, fosforo, ácido salicílico y las sulfonamidas.
  - Nefrosis amiloide (marcada proteinuria y sedimento céreo).
  - Acidosis: especialmente en la diabetes.
  - Trauma.
  - Infarto renal.

- Neoplasma.
  - ✓ La proteína de Bence-Jones está presente en multiples mielomas, apareciendo en forma de precipitado al calentar la orina a temperaturas entre 50-60ºC, y desaparece parcialmente al hervir, si se acidifica.

- Proteinuria Posrenal (falsa o accidental)

Las proteínas logran entrar en la orina, después de haber dejado estas, los túbulos renales, por contaminación con exudados o con sangre. Como son: Pielitis, Ureteritis, Cistitis, Uretritis, Descargas vaginal o prepucial, Prostatitis, Urolitiasis, Trauma con hemorragia (como resultado de un cateterismo inadecuado).

Cuadro 4.3. Clasificación de las Proteinurias en Función de su Intensidad

Intensidad de Proteinuria	g/día	Interpretación
Marcada	4	• Típica del Síndrome Nefrótico • Glomerulonefritis severas • Nefroesclerosis • Enfermedad amiloide • Lupus eritematoso • Congestión venosa grave (trombosis de la vena renal)
Moderada	0.4 a 4	• En la mayor parte de las enfermedades renales • Glomerulonefritis crónica • Nefropatía toxica • Preeclampsia y condiciones inflamatorias malignas, degenerativas e irritativas del tracto urinario
Mínima	0.5	• Enfermedades poliquísticas de riñones • Desordenes túbulo-renales • Fases de curación de las glomerulonefritis renales • Desordenes del tracto urinario bajo

Fuente: Messeguer *et al*. (1992)

- Para tener una idea clara del origen de la proteína urinaria es imprescindible realizar estudio del sedimento y comprobar la existencia/ausencia de elementos formes de origen renal (cel. de epitelio renal, cilindros, entre otros) (Messeguer *et al*. 1992).

4.3.4. Glucosa

La glucosa es el azúcar que comúnmente se busca en la orina, aunque pueden existir otros hidratos de carbono de importancia diagnostica. Pueden hallarse otros azucares como lactosa, fructosa, galactosas o pentosas (Benjamin 1962).

La glucosa se filtra libremente por el glomérulo y entra en la parte proximal del túbulo, donde un sistema de transporte activo especifico la reabsorbe y devuelve a la circulación. Normalmente, casi toda la glucosa es reabsorbida del filtrado tubular proximal y muy poca pasa a la orina, pero en algunos casos la concentración de glucosa puede exceder la capacidad del sistema de transporte tubular y entonces la glucosa pasa a la orina (Medway *et al*. 1973).

Esto ocurre en:

- El nivel de glucosa plasmática es excepcionalmente elevado.
- La capacidad de reabsorción del mecanismo tubular está deteriorado.

- Situaciones en las que es necesario un test de glucosuria:

  - Análisis rutinarios como índice de una posible diabetes.
  - Mediciones simultaneas de glucemia y glucosuria, para detectar disturbios del túbulo proximal; como los que se presentan en: Envenenamiento nefrotoxico, Enfermedad renal parenquimatosa, Síndrome Fanconi.

❖ **Procedimiento**

A. Prueba de Benedict

Se basa en que la acción reductora de la glucosa y otras sustancias reductoras, sobre una solución alcalina de sulfato de cobre, reduce el ion cúprico a cuproso, el cual precipita en forma de óxido cuproso de color amarillo a rojo.

Se procede de la siguiente forma:

1. Colocar 5 ml de reactivo Benedict en un tubo de ensayo.

♣ **Reactivo de Benedict** según Messeguer *et al.* (1992):

- 17.3 g de Sulfato de Cobre (disueltos en 100 ml de agua destilada calentando)
- 17.3 g de Citrato Sódico y 100 g de Carbonato Sódico (Anhidro), disueltos en 600 ml de agua destilada calentando
- Se filtra la solución
- Mezclar bien, añadiendo la solución (a) en la solución (b) y llevar el volumen hasta 1,000 ml de agua destilada

2. Añadir 8 gotas (0.5 ml) de orina y mezclar enérgicamente por agitación de uno a otro lado.
3. Colocar en un baño de agua hirviendo por 2-3 minutos.
4. Dejar enfriar el tubo y observar el cambio de color.

5. Anotar los resultados de la siguiente manera:

a) Negativo, azul claro o ligeramente azul verdoso debido a los uratos (-)
b) Precipitado verdoso (+)
c) Precipitado amarillo verdoso (++)
d) Precipitado amarillo anaranjado (+++)
e) Precipitado anaranjado rojizo (++++)

❖ **Interpretación**

a. Fisiológicas

- Situaciones que estimulan la producción de epinefrina y liberación de glucocorticoides (ejercicio violento, miedo y estados de shock).
- Alimentación excesivamente rica en carbohidratos (glicosuria transitoria, desapareciendo en el momento que la dieta vuelve a la normalidad).
- Aumento de la liberación de glucosa a partir del glucógeno hepático (consecutivas anestesia general, convulsiones, situaciones de asfixia).
- Hiperglucemia consecutiva a la inyección de glucocorticoides, epinefrina, soluciones de dextrosa.

b. Patológica

➢ Procesos Renales:

- Siempre que haya una imposibilidad para que la glucosa filtrada sea reabsorbida a nivel tubular (Algunos casos de nefritis o Cuando haya disminución en el dintel renal para la glucosa).
- En la enterotoxemia de la oveja por *Cl. perfringens.*
- Tras la administración de grandes dosis de Vitamina C.
- De origen toxico o medicamentoso.

➢ Procesos Extrarrenales:

- Diabetes Mellitus.
- Estados de pancreatitis, que llevan consigo la disminución en la producción y liberación de la insulina (ej. Necrosis pancreática aguda).
- Hipertiroidismo.
- Hiperpituitarismo.
- Enfermedades hepáticas crónicas.
- Aumento de presión intracraneal (tumores hemorragias, encefalitis, fracturas).
- Incremento de la actividad de la corteza adrenal.

Una reacción positiva falsa para la glucosa en pruebas a base de reducción de iones, puede tener causas por algunas drogas como: Antibióticos, Ácido ascórbico, Morfina, Salicilatos, Hidrato de cloral, Formaldehido; Lactosa, pentosa y otros azucares reductores.

4.3.5. Cuerpos Cetonicos

Cuando la cantidad de ácidos grasos movilizados es grande, se metabolizan incompletamente y se forman compuestos intermediarios del metabolismo de las grasas, que aparecen en sangre y son excretados por la orina. Estos productos son los cuerpos cetonicos: ácido acetacetico (diacéico), acetona y acido beta-hidroxibutirico (Messeguer *et al*. 1992).

En condiciones fisiológicas, en orina existen pequeñas cantidades de cuerpos cetonicos, pero tan mínimas que no se detectan con los métodos corrientes de análisis, por tanto, siempre que se detecten cuerpos cetonicos en orina, su presencia debe considerarse como anormal.

La presencia de Cuerpos Cetonicos en orina es consecuencia de dos situaciones generales:

- Aumento de la cetogénesis debido a:
  - Alteraciones en el metabolismo intermediario de las grasas.
  - Ingestión de proteínas ricas en aminoácidos cetogenéticos.
  - Falta de aporte suficiente de hidratos de carbono con la ración.
- Disminución de la cetolisis hepática.

❖ **Procedimiento**

A. Prueba de Ross

El nitroprusiato de sodio (nitrosoferricianuro sódico) se descompone en $Na_4Fe(CN)_6$, $NaNO_2$ y $Fe(OH)_3$ en una solución alcalina. Estos productos son agentes oxidantes que forman un complejo de color purpura en presencia de ácido diacéico y de la acetona (Benjamin 1962).

Según Coffin (1952) el reactivo se prepara, realizando una mezcla en polvo de:

- 1 parte de Nitroprusiato de Sodio
- 100 partes de Sulfato Amónico

Se procede de la siguiente forma:

1. Se coloca en un tubo de ensayo seco, el reactivo en polvo hasta una altura de 13 mm (1.3 cm).
2. Se añaden 5 ml de orina y se agita.
3. Agréguese 1-2 ml de hidróxido de amonio concentrado de modo que forme una capa por encima de la mezcla.

4. La reacción se consigna como sigue:

   a. Ligerísimo color purpura (Huellas)
   b. Ligero color purpura (+)
   c. Moderado color purpura (++)
   d. Purpura oscuro (+++)
   e. Purpura oscuro o negro (++++)

❖ **Interpretación**

- Cetosis (acetonemia): por metabolismo deficiente de los carbohidratos; se da en vacas preñadas y lactantes, y en ovejas preñadas (Asociada con hipoglucemia).
  - ✓ Distinguir entre cetosis grave y la cetosis benigna de un animal que deja de comer por otras causas patológicas.

- Diabetes (Asociada con hiperglicemia, como falta de utilización normal de los carbohidratos).
  - ✓ La cetosis clínica es rara en perros, cuando se observa en estos animales, suele estar asociada con diabetes, por lo que esta debe ser la primera afección a investigar.
- Acidosis.
- Dieta demasiada grasa.
- Inanición o ayuno.
  - ✓ Agotadas las reservas de carbohidratos, el metabolismo de las grasas es predominante.
  - ✓ El perro adulto es relativamente resistente al desarrollo de la cetosis durante el ayuno; pero en los cachorros, se observa un desarrollo notable de cetosis.
- Trastornos en la función hepática.
- Después de anestesia con éter o cloroformo.
- Vómitos y diarrea prolongada: cetosis por inanición.
- Enfermedades infecciosas: asociada con desequilibrio térmico.
- Fiebre de leche: si es prolongada.
- Desordenes endocrinos.
- Hiperfunción de la pituitaria anterior o de la corteza adrenal.
- Exceso de hormonas sexuales femeninas.

4.3.6. Bilirrubina

La Bilirrubina se elimina en la sangre circulante al pasar por el hígado que la conjuga con el ácido glucuronico y luego es vertida al intestino por el tracto biliar. Cuando la ruta de salida está deteriorada (obstrucción del conducto biliar debido a cálculos o tumores, o bien obstrucción intrahepatica debida a la hinchazón de células dañadas), la bilirrubina conjugada refluye nuevamente al torrente circulatorio. Esta bilirrubina conjugada o directa es soluble en plasma y por tanto se filtra a través del glomérulo, pudiendo encontrarla en la orina; por el contrario, la bilirrubina indirecta, no conjugada, ligada a una albumina, no se excreta a menos que también se presente albuminuria (Messeguer *et al*. 1992).

❖ **Procedimiento**

A. Modificación de Rosenbach a la Prueba de Gmelin

La prueba consiste en que los pigmentos biliares al ser oxidados por los ácidos dan diversos derivados altamente coloreados como lo son las Biliverdina (verde), la Bilicianina (azul) y la Coletelina (amarilla).

1. Dejar secar parcialmente el papel filtro a través del que ha pasado la orina.
2. Colocar 1 gota de ácido nítrico amarillo, en el área húmeda del papel filtro.
3. El desarrollo de color entorno a la gota de ácido nítrico, principalmente de colores verde, azul y violeta indica la presencia de pigmentos biliares.
   - ✓ El ganado vacuno contiene pigmentos distintos de la bilis que se vuelven entre rosados y rojos al contacto con el ácido.

B. Prueba Semicuantitativa para la Bilirrubina

Según Hawkinson *et al.* (1945) esta prueba es simple, especifica y reproducible, por lo que se recomienda para el laboratorio clínico.

1. Sumergir una tira de papel filtro especialmente preparado en la orina y dejar que la bilirrubina vaya siendo absorbida a lo largo de la línea de contacto.
   - ✓ Tiras de papel filtro grueso, saturadas con una solución concentrada de cloruro de bario, dejar secar y cortar en tiras de 1 x 10 cm.
2. Retirar el papel y agregar 2 a 3 gotas de Reactivo de Fouchet en el punto de máxima absorción.

♣ **Reactivo de Fouchet** según Coffin (1952)

- Ácido Tricloracetico: 25 g
- Solución acuosa de Cloruro Férrico 10%: 10 ml
- Agua destilada: 100 ml

3. Se consigna de la siguiente manera:

a) Ningún cambio de color (-)
b) Verde apenas perceptible (±)
c) Verde claro (+)
d) Verde intensidad media (++)
e) Verde muy oscuro (+++)

❖ **Interpretación**

El descubrimiento de Bilirrubina en orina indica, un nivel sérico elevado de la forma conjugada que se asocia a trastornos obstructivos hepáticos.

Las consideraciones a tener en cuenta según las diferentes especies animales son:

- Carnívoros: En estados fisiológicos, febriles o consecuencia de inanición, puede dar test débilmente positivos. Esto no necesariamente indican existencia de trastornos hepáticos. (Solo debe considerarse una positividad significativa cuando aparezcan niveles medio o altos)
- Bovinos: La interpretación debe ser muy cuidadosa, atendiendo a la anamnesis del animal en cuestión. Se ha comprobado que solo el 60% de los bovinos que presentan hepatopatías, evidencian bilirrubina en sus orinas.
- Equinos: la prueba es poco significativa.

a. Situaciones en que aparece bilirrubina en la orina

- Obstrucción del flujo de bilis del hígado.
  - ✓ Obstrucción completa: presencia de bilirrubina sin urobilinogeno.
  - ✓ Obstrucción parcial: presencia de bilirrubina y urobilinogeno.
- Afección hepática: la bilirrubina en la orina puede preceder a la ictericia clínica.
  - ✓ Hepatitis: presencia de bilirrubina y urobilinogeno.
  - ✓ Destrucción rápida de células hepáticas.
- Ictericia causada por hemolisis: la bilirrubina no se presenta hasta que la excesiva hemoglobinemia ocasiona trastornos en el hígado.
  - ✓ La ausencia de bilirrubina y la presencia de cantidades crecidas de urobilinogeno ayuda a la diferenciación de la ictericia hemolítica de la causada por obstrucción biliar y enfermedad hepatocelular.

- Enteritis aguda.
- Obstrucción intestinal.

4.3.7. Urobilinogeno

La bilirrubina conjugada, segregada por el hígado a la bilis, es excretada al tracto intestinal a través de los conductos biliares. La acción bacteriana que tiene lugar en el tracto intestinal convierte la bilirrubina en urobilinogeno (Messeguer *et al.* 1992).

El urobilinogeno es excretado en las heces en forma de estercobilina (pigmento que contribuye al color castaño oscuro en las heces), pero algo es absorbido en el intestino y transportado en la sangre portal hasta el hígado, donde es reciclado y excretado en la bilis. Una pequeña cantidad de urobilinogeno pasa a través del filtrado glomerular a la orina (Duncan y Prasse 2005).

❖ **Procedimiento**

A. Prueba para Urobilinogeno de Wallace y Diamond

Se basa en que la reacción del urobilinogeno y otros cromógenos con el reactivo de benzaldehído de Ehrlich produce una coloración roja (Benjamín 1962).

- Es esencial que la orina sea fresca ya que el urobilinogeno, al ser expuesto a la luz y al aire, se convierte en urobilina la cual no reacciona. En caso de que haya una gran cantidad de bilis presente en la orina, deberá mezclarse esta con un volumen igual de solución acuosa de cloruro de bario al 10%, y filtrarse, a fin de separar el precipitado, ya que la bilirrubina estorba para apreciar el resultado del urobilinogeno (Messeguer *et al*. 1992).

1. Añadir 0.5 ml del reactivo de Ehrlich en un tubo de ensayo que contengan 5 ml de orina

♣ **Reactivo de Benzaldehído de Ehrlich** según Benjamín (1962):

- 2 g de Para-Dimetilaminobenzaldehido
- 100 ml Solución acuosa al 20% de HCL

2. Dejar reposar la mezcla en el tubo por 5 minutos y observar si aparece coloración, de rosa a rojo, mirando contra un fondo blanco en la dirección de la longitud del tubo.

3. Los resultados se consignaran de la siguiente forma:

a) Entre rosa y rojo tenue (Normal)
b) Ni rojo, ni color rosa (Ausencia)
c) Rojo cereza (Aumento)

- Cuando la orina, sin diluir, exhibe una evidente alta proporción de urobilinogeno, lo cual se aprecia por un color rojo cereza, puede ser útil llevar a cabo una "Determinación Semicuantitiva", haciendo diluciones de orina y repitiendo la prueba.

B. Determinación Semicuantitativa

1. Colocar de 6-8 tubos de ensayo del mismo diámetro en una gradilla. Verter 5 ml de agua en cada tubo.
2. Se añaden 5 ml de orina fresca en el primer tubo, mezclarlo; luego se extrae 5 ml de esta solución, usando una pipeta y agregarla al segundo tubo.
3. Repítase este procedimiento en los sucesivos tubos hasta el último, del cual se extraerán 5 ml de solución que se apartaran por si fuera necesario una dilución más.
4. Se añadirá 0.5 ml de reactivo de Ehrlich a cada tubo y mezclar perfectamente.
5. Dejar reposar cada tubo durante 5 minutos; el último tubo en que aparezca un color rosa desvaído debe tomarse como punto final.

- Cuando se emplee cloruro de bario para separar la bilirrubina, debe tomarse en cuenta la dilución que resulta de esta adición; pues la dilución en el primer tubo, para la determinación Semicuantitativa, sería de 1:4 (y no de 1:2), la dilución en el segundo seria de 1:8, y así sucesivamente.

❖ **Interpretación**

a. Ausencia de Urobilinogeno

- Obstrucción completa del conducto biliar.
- Escasa destrucción de eritrocitos.
- Desarreglos de la absorción intestinal (como en la diarrea).
- Ciertos antibióticos: como aureomicina, debido a la inhibición de las bacterias intestinales
- Cirrosis del hígado.
- Nefritis: debido a la dilución del urobilinogeno, ocasionada por la poliuria inherente a la nefritis crónica.

b. Aumento de Urobilinogeno

- Procesos hemolíticos en los que aumenta el urobilinogeno eliminado por el riñón.
  - ✓ Anemia hemolítica.
  - ✓ Anemia perniciosa.
- Cuando hay reducción funcional de la masa hepática.
  - ✓ Ictericia hepatocelular.
  - ✓ Todos los trastornos hepáticos en los que disminuye la capacidad del hígado para eliminar el urobilinogeno.

- Entre las sustancias que interfieren con la prueba, pueden ser: Indol (coloración rojiza), Bilis y nitritos (coloración verde), Sulfamidas y procaina (coloración amarillo verdoso), Formalina.

4.3.8. Nitritos

La presencia de nitritos en la orina puede utilizarse para indicar la existencia de bacterias. Para la determinación de Nitritos Urinarios se realiza, mediante tiras reactivas de diferentes laboratorios. La mayoría utilizan una amina aromática que reacciona con el Nitrito para formar un compuesto diazoico que se visualiza por el cambio de color (Messeguer *et al*. 1992).

Reducen el Nitrato a Nitrito:

- ✓ *E. coli*
- ✓ *Proteus*
- ✓ *Klebsiella*
- ✓ *Enterobacter*
- ✓ *Corinebacterium*
- ✓ *Salmonella*

Formadores Parciales de Nitrito:

- ✓ *Enterococus*
- ✓ *Staphylococus*
- ✓ *Pseudomonas*

- Dan falso positivos: orinas que llevan mucho tiempo recolectadas.
- Dan falsos negativos: ácido ascórbico a altas dosis y antibióticos.

4.3.9. Sangre

La presencia de sangre o hemoglobina libre en la orina, es siempre patológica y recibe nombres distintos según se trate de uno u otro elemento.

- Hematuria: presencia de sangre total en la orina.
- Hemoglobinuria: presencia de pigmento hemático (hemoglobina) libre en la orina.
- Mioglobinuria: presencia de mioglobina en orina.

Es normal encontrar unas cuantas células hemáticas en la orina (5-7 por campo) dependiendo de la técnica de extracción de la muestra de orina, a esta se le considera como microhematuria fisiológica; pero si aparecen más células por campo, a altos aumentos; indican hemorragia, inflamación, traumas, neoplasias (Messeguer *et al.* 1992).

❖ **Procedimiento**

Los análisis para detectar la presencia de sangre o pigmentos sanguíneos los podemos clasificar en:

➢ Examen Microscópico: Se centrifuga la orina y se hace un frotis del sedimento, con el fin de observar los hematíes.

➢ Examen Espectroscópico: Se anotan las bandas de absorción de la muestra de orina, comparando con las observaciones de la tabla de referencia a fin de identificar la hemoglobina o sus derivados.

➢ Examen Químico: Es la forma más fácil para diferenciar si se trata de uno u otro pigmento.

a. Centrifugación: se centrifuga una parte de orina y se compara el sobrenadante con la porción de orina sin centrifugar.
   - El sobrenadante de la muestra con hemoglobinuria o mioglobinuria permanecerá del mismo color que la porción sin centrifugar de orina.
   - El sobrenadante de la muestra con hematuria tendrá menor tono.

b. Comparación del plasma: al comparar el aspecto del plasma, nos permite diferenciar entre hemoglobinuria y mioglobinuria.
   - Pacientes con hemoglobinuria tienen el plasma rosáceo; mientras que el color del plasma en la mioglobinuria no se modifica.

c. Tiras Reactivas.

d. Prueba de Bencidina

Se basa en que la peroxidasa de la hemoglobina reduce al peróxido y libera oxigeno que es detectado por el indicador, la Bencidina (Benjamín 1962).

Se procede de la siguiente manera:

1. Disuélvase una pequeña cantidad de base de Bencidina (la punta de un cuchillo) en 2 ml de ácido acético glacial.
2. Agréguense 2 ml de orina y mézclese.
3. Agréguense 1 ml de Peróxido de Hidrogeno reciente y mézclese.
4. La aparición a los 5 minutos, de un color verde o azul indica la presencia de sangre.

- Para probar si el peróxido de hidrogeno es reciente; se añaden a unos mililitros de peróxido de hidrogeno, unas gotas de ácido sulfúrico concentrado y unas gotas de una solución de dicromato potásico; una coloración azul denota que el peróxido tiene la actividad requerida.

❖ **Interpretación**

La hematuria no es un indicador específico de que exista enfermedad del tracto urinario. Una vez se demuestra que existe, hay que localizar la fuente; y ello debe interpretarse teniéndose en cuenta otros hallazgos del sedimento (Messeguer *et al*. 1992).

- Agentes oxidantes en la orina, pueden dar resultado falso positivo para la sangre (Duncan y Prasse 2005).

Cuadro 4.4. Causas de una Prueba de Sangre Oculta Positiva y su Diferenciación

Hematuria	✓ Orina roja y turbia, que se aclara con centrifugación. ✓ Eritrocitos en el sedimento urinario. ✓ Ausencia de evidencia clínica o laboratorial de anemia hemolítica o enfermedad muscular.
Hemoglobinuria	✓ Orina roja a marrón que no se aclara tras la centrifugación. ✓ Ausencia de eritrocitos en el sedimento urinario. ✓ Decoloración roja concomitante del plasma (hemoglobinemia). ✓ Evidencia de anemia, particularmente del tipo hemolítica intravascular. ✓ Ausencia de evidencia clínica o laboratorial de enfermedad muscular. ✓ La adición de una solución de sulfato amónico saturado elimina el color mediante la precipitación de hemoglobina. La solución de sulfato amónico no precipitara la mioglobina y la orina permanece decolorada.
Mioglobinuria	✓ Orina roja a marrón que no se aclara tras la centrifugación. ✓ Ausencia de eritrocitos en el sedimento urinario. ✓ Plasma claro, de color normal. ✓ Ausencia de evidencia clínica o laboratorial de anemia. ✓ Evidencia clínica o laboratorial de enfermedad muscular.

Fuente: Duncan y Prasse (2005)

A. Causas de Hematurias

a. Hematurias Renales

- Glomerulonefritis aguda y lesión tubular intensa.
- Nefritis agudas y purulentas.
- Pielonefritis y pielitis.
- Traumatismos a nivel renal.
- Litiasis renales.
- Neoplasias renales.
- Infarto renal.

b. Hematurias Extrarrenales

- De origen uretral (traumatismo, litiasis).
- De origen prostático (tumores y prostatitis).
- De origen vesical: son hematurias que aparecen al final de la micción (traumatismos, litiasis, cistitis agudas, cáncer de vejiga).
- De origen ureteral: la causa más frecuente, es la migración de cálculos a lo largo del uréter
- Parásitos (*Sioctophyma renal* y *Capillaria plica*).
- Traumatismos iatrogénicos (cateterización, palpación de vejiga o riñón).
- Hematuria enzootica bovina.
- Estro.
- Inflamación o tumores del tracto genital.
- Traumatismos a nivel del tracto genital.

B. Causas de Hemoglobinurias

Ligada siempre a un aumento de la concentración de hemoglobina plasmática, casi siempre relacionada a enfermedades prerrenales.

- Reacción frente a transfusiones.
- Anemia hemolítica: Anemia infecciosa equina, Leptospirosis, Babesiosis, Anaplasmosis, Hemoglobina bacilar, Hemoglobinuria postpartum, Enfermedad hemolítica del recién nacido, Agentes tóxicos (nabos silvestres).
- Ciertas neoplasias.
- Enfermedades autoinmunes.
- Intoxicación por fenotiacina.

- Las Hemoglobinurias vienen a ser la expresión de una enfermedad general, mientras que las Hematurias están más relacionadas con alguna alteración localizada o generalizada del aparato urinario (Messeguer *et al*. 1992).

C. Causas de Mioglobinurias

Es relativamente rara en animales, pero puede aparecer en las siguientes situaciones:

- Mioglobinuria paralitica equina (azoturia).
- Distrofia muscular enzootica de terneros y corderos (la orina no se colorea intensamente, porque los músculos no tienen suficiente hemoglobina cuando los animales son jóvenes).
- Aplastamiento y cirugía que dañe el tejido muscular.
- Crisis epilépticas.
- Ejercicio muy intenso.
- Enfermedades víricas.

- Este tipo de procesos, provocan un síndrome clínico caracterizado por la presencia de: mioglobina, creatinina, creatinakinasa, potasio y fosfato inorgánico en torrente circulatorio.

4.3.10. Método Semi-automatizado

Es un procedimiento rápido, económico y sencillo; sin mucha dificultad en la interpretación de los resultados. Se basa en la utilización de Tiras Reactivas con varias almohadillas impregnadas en reactivos, para reaccionar ante los diferentes parámetros para los cuales fue destinada.

Fig. 4.6. Equipos Usados en el Método Semi-Automatizado

Hay variedad de Tiras Reactivas, fabricada por diferentes laboratorios o casas comerciales; pero la mayoría evalúan 10 parámetros específicos, como son:

1) Glucosa.
2) Bilirrubina.
3) Cuerpos Cetonicos.
4) Densidad.
5) Sangre.
6) pH.
7) Proteína.
8) Urobilinogeno.
9) Nitritos.
10) Leucocitos.

Al utilizar tiras impregnadas en reactivos, hay que recordar seguir ciertos consejos, para que los resultados sean confiables y no hallan falsos positivos, ni dificulten la interpretación de los diferentes parámetros.

❖ Messeguer *et al.* (1992) aconseja que para la utilización de tiras reactivas, y productos semejantes; se debe seguir los siguiente:

a. Almacenar en un sitio fresco y seco (no frigorífico).
b. Preservar de la luz directa y del calor.
c. Tapar inmediatamente después de sacar la tira, solo deben abrirse los recipientes cuando sea absolutamente necesario.
d. No tocar con las manos las áreas que están impregnadas con reactivo.
e. Cuando veamos un color anormal en las tiras deben desecharse.
f. Utilizar orina recogida recientemente y bien mezclada. Si la orina se conservó en nevera, antes de introducir la tira dejaremos que adquiera la temperatura ambiente.
g. No filtrar ni centrifugar la orina antes de utilizarlas.
h. Sumergir completamente, pero solo durante unos segundos para evitar que se pierdan los reactivos por el lavado.
i. Hacer las lecturas al tiempo exacto que indican las casas fabricantes.
j. Anotar inmediatamente los resultados de la lectura comparativa con la carta estándar, para evitar problemas de olvidos o confusión de resultados.

Fig. 4.7. Tira Reactiva para el Ex. Químico de la Orina

Las diferentes casas comerciales y autores, recomiendan la lectura de los parámetros en un orden y tiempo determinado, como podemos observar en el "Cuadro 4.5.":

Cuadro 4.5. Orden y Tiempo de Lectura de los Principales Parámetros Evaluados para el Examen Químico de la Orina

Parámetros	Orden	Tiempo (segundos)	
		Según Autores	Según Casas Comerciales
Glucosa	1	30	60
Bilirrubina	2	30	
Cuerpos Cetonicos	3	40	
Densidad	4	45	
Sangre	5	60	
pH	6	60	
Proteína	7	60	
Urobilinogeno	8	60	
Nitritos	9	60	
Leucocitos	10	120	120

❖ **Procedimiento**

Antes de centrifugar la orina se procede a homogenizar la muestra, y realizar el Examen Químico:

1. Se introduce la tira reactiva en la muestra, logrando que la orina cubra toda la tira.
2. Se deja entre 2-4 segundos y se retira inmediatamente.

3. Al remover la tira de la orina, sujétela contra el contenedor para eliminar el exceso de líquido.
4. Coloque la tira en posición horizontal, y ponga las puntas en contacto con un papel toalla para evitar el derrame de la muestra.
5. Compare los resultados con los parámetros definidos en la tabla de color del frasco, a los tiempos indicados.

Fig. 4.8. Tira Reactiva Sumergida en la Orina. Tomado de Chew y DiBartola (1998)

Fig. 4.9. Lectura de la Tira Reactiva. Tomado de Chew y DiBartola (1998)

❖ **Interpretación**

La interpretación es la misma que la expuesta anteriormente, en cada uno de los parámetros que se evalúa en el Examen químico.

4.4. EXAMEN MICROSCÓPICO DEL SEDIMENTO URINARIO

El examen microscópico del sedimento urinario se realiza para detectar la presencia de elementos figurados y partículas microscópicas en la orina; siendo por esto de gran importancia clínica y por lo cual no debería de omitirse nunca. El reconocimiento de objetos significativos en el sedimento urinario solo es posible lograrlo por experiencia (Messeguer *et al.* 1992).

La orina normal, contiene poco sedimento, en este puede haber uno que otro leucocito, células epiteliales, mucus, cristales, y bacterias si la orina no fuese recogida asépticamente. Los cilindros y eritrocitos desaparecen al reposar la muestra, por lo que el examen debe hacerse en muestras de orina reciente.

Las estructuras cuya identificación interesan son cilindros, eritrocitos, leucocitos, bacterias e identificación de los cristales con significancia patológica; debe hacerse caso omiso a objetos que carecen de significación clínica, dado que la orina puede estar contaminada por todo género inimaginable de detritus. Un excesivo número de alguno de los elementos que componen el sedimento, por campo a altos aumentos, puede indicar anormalidades (Benjamín 1962).

❖ **Procedimiento**

Normalmente se hace una centrifugación previa de la orina antes del examen; pero algunos laboratorios no centrifugan, pues la orina sin centrifugar es apta para visualizar células pero no para detectar cilindros.

Por lo que se aconseja hacer 2 exámenes, uno con orina sin centrifugar y otro con orina centrifuga, para poder dar un resultado más fiable.

1. Homogenizar bien la muestra y pasar a un tubo de centrifugación cónico.
2. Llénese con orina hasta poco menos de 1 cm, del borde, o 10 ml de orina para mayor exactitud.
3. Centrifugar a 1500-2000 r.p.m, durante 5 minutos.
4. Nótese la cantidad de sedimento depositado en el fondo del tubo, y consígnese como: Nulo, Escaso, Moderado o Abundante.
5. Decantar el sobrenadante, dejando únicamente la cantidad precisa para poder hacer la resuspensión del mismo, mediante ligeros golpes con los dedos.
6. Si se desea se puede añadir el colorante.

♣ Reactivo
- Solución acuosa de eosina 0.5%:
  - 500 mg de eosina en 100 ml de agua destilada.
- Solución de azul de metileno – acido pícrico:
  - 1 ml de solución acuosa de azul de metileno 1% en 10 ml de solución saturada de ácido pícrico.
  - Agregar 10 gotas de glicerol por cada 10 ml.

♣ Método:
- Agregar 1 gota de eosina 0.5% al sedimento asilado y mezclar.
- Dejar transcurrir 2 minutos y añadir 2 gotas de azul de metileno – acido pícrico.
  - ✓ El sedimento debe aparecer verde-azulado, si aparece teñido de rojo marrón-rojizo, añadir 1 gota más de solución azul.

7. Colocar 1 gota del sedimento en un portaobjeto y colocamos el cubreobjeto. La gota no debe ser demasiado grande y evitar la formación de burbujas.
8. Examinar antes que se produzca la evaporación.
9. Examinar en el microscopio de la siguiente manera:
   a. Con poca iluminación (cerrar el diafragma o quitar el condensador)
   b. A bajo aumento (objetivo 10x), para:
      - ✓ Comprobar si el sedimento es abundante.
      - ✓ Observar si la distribución de los diferentes elementos es relativamente homogénea.
      - ✓ Estimar semi-cuantitativamente el número de cristales (en Ocasionales, Moderados, Abundantes).
      - ✓ Contar el número de cilindros por campo (al menos 10) y dar un valor relativo, e identificando los diferentes tipos.
   c. A aumento mayor (objetivo 40x), para:
      - ✓ Contar el número de hematíes y leucocitos por campo (al menos 10) y dar un valor relativo.
      - ✓ Diferenciar y contar el número de los diferentes tipos de células epiteliales, por campo o realizar una estimación relativa.
      - ✓ Observar la presencia de otros elementos del sedimento (ej. microorganismos) y realizar una estimación de su concentración.

- Si se quiere hacer un examen semicuantitativo del sedimento, deben visualizarse al menos 10 campos y hallar la media de los elementos como resultado final (Benjamín 1962).

4.5. INTERPRETACIÓN DE LOS HALLAZGOS DEL SEDIMENTO URINARIO

Lo más importante del análisis del sedimento no es identificar cristales ni otros elementos de desecho sin importancia, sino tener un buen conocimiento de lo que no es fisiológico (Messeguer *et al*. 1992).

4.5.1. Estructuras Organizadas

4.4.1.1. Células Epiteliales

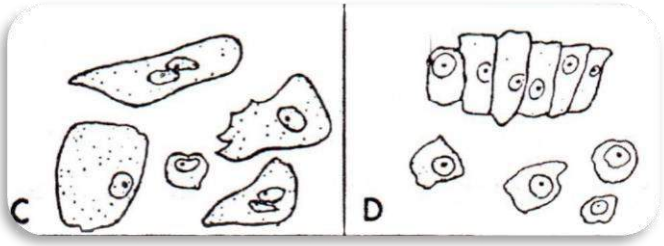


Fig. 4.10. Células del Epitelio Vesical y Renal

Consisten en grandes células transicionales del fondo vesical, o pequeñas células de transición del cuello de la vejiga. En ocasiones se aprecian grandes células de epitelio monoestratificado provenientes de la pelvis renal y pequeñas células cuboidales de los túbulos renales (Coffin 1952).

A. Células de Descamación

Puede detectarse en orinas normales debido al proceso continuo de descamación fisiológica que sufre todo epitelio. Su presencia es patológica cuando existen en gran número debido a irritaciones por:

- Microorganismos.
- Productos químicos (de acción irritante, caustica o alérgica).
- Cuerpos extraños (cálculos, sondas, catéteres).
- Procesos degenerativos (presencia de células anormales).
- Procesos invasivos destructivos.

B. Células de Epitelio Columnar o Cuboides

Revisten el área que va desde la capsula de la nefrona hasta los tubos colectores, pasando por los túbulos proximales y distales. De morfología redondeada, ligeramente prismáticas, tamaño un poco mayor que los Gl. Blancos, de núcleos claros y grandes. Se presentan en situaciones patológicas como: Glomerulonefritis, Pielonefritis, Esclerosis renal, Amiloidosis.

C. Células de Epitelio de Transición

Recubre los cálices, pelvis renal, uréteres, vejiga y uretra. Consta de 3 capas: basales, intermedias y células superficiales. De morfología redondeada, oval y piriforme, con prolongación del citoplasma en forma de cola, llamadas células en raqueta. Tamaño del doble de los leucocitos, estructura granular y el núcleo es redondo y pequeño.

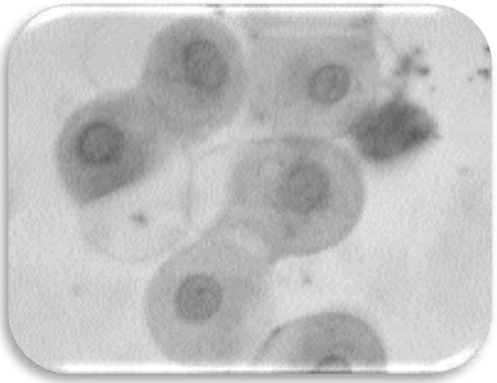
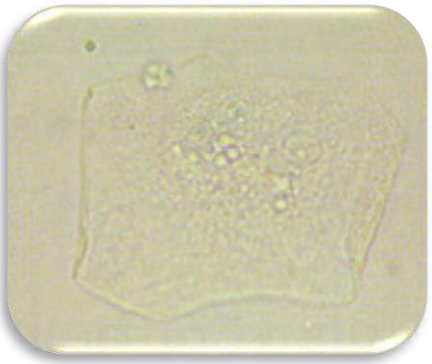


Fig. 4.11. Células del Epitelio Transicional. Tomado de Chew y DiBartola (1998)

Algunas células de epitelio de transición pueden estar presentes en la orina, de forma normal. El número de células se ve aumentado en los casos de: Cistitis y Pielonefritis.

D. Células del Epitelio Escamoso

Fig. 4.12. Células del Epitelio Escamoso. Tomado de Sink y Feldman (2004)



Proceden de la capa más superficial de la vejiga, uretra y vagina. Son las de mayor tamaño, contorno irregular, polimorfas, núcleo pequeño y redondo. Aparecen en los procesos de Cistitis, Uretritis, Vaginitis.

4.4.1.2. Células Hemáticas

A. Eritrocitos

Aparecen con formas circulares, bicóncavas, sin núcleos y refractan la luz; su coloración va de amarillo a anaranjado, aunque puede ser incoloro si su permanencia en la orina ha sido suficiente para disolver su hemoglobina, de tamaño menor al de los Leucocitos. Es fisiológico encontrar de 3 a 5 hematíes por campo; más de 7 se considera como patológico (Messeguer *et al.* 1992).

Su aspecto puede variar de acuerdo a las propiedades físicas y químicas de la orina:

- En orinas concentradas, los eritrocitos se presentan de aspecto irregular, estrellado o identadas.
- En orinas diluidas, los eritrocitos se presentan de forma globosa o anillos, de color desviado o incoloro.

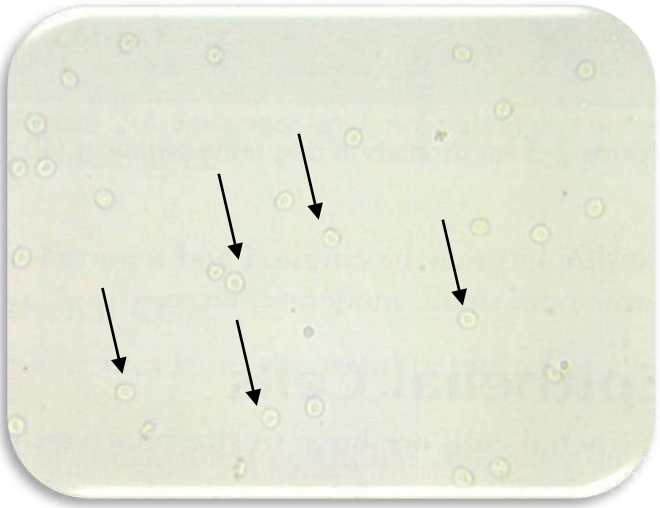


Fig. 4.13. Eritrocitos. Tomado de Sink y Feldman (2004)

Se pueden confundir con levaduras, gotas de grasa, cristales de urato amónico y oxalato cálcico. Para distinguirlos, se puede realizar una tinción de Gram y se teñirán de rojo.

❖ La hematuria indica siempre una alteración extrínseca o intrínseca del tracto urinario:

a. Factores Extrínsecos: procesos invasivo-destructivos que afectan el sistema excretor, en estos casos la hematuria puede ser macroscópica.

- Tumores retroperitoneales.
- Tumores endometriales.

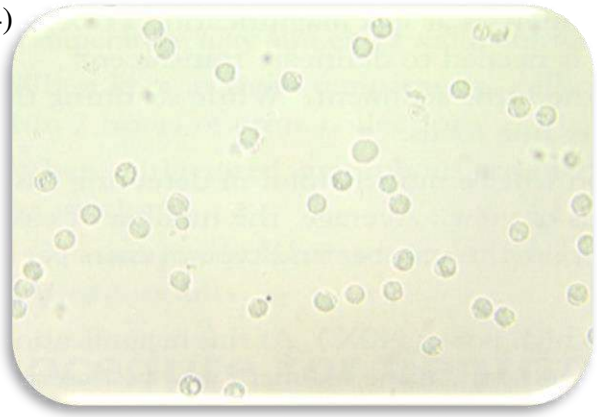
b. Factores Intrínsecos

- Origen nefrológico: la hematuria puede ser macro o microscópica:
  - Glomerulonefritis.
  - Purpuras.
  - Lupus eritematoso.
  - Pielonefritis.

- Origen urológico: debido a la transformación de la sangre en hematina acida, se hace tan oscura que parecen posos de cafés.
  - Infecciones (tuberculosis, cistitis).
  - Invasivas (tumores).
  - Litiasis.
  - Obstructivas (adenoma prostático).
  - Congestivas (prostatitis).

B. Leucocitos

Fig. 4.14. Leucocitos. Tomado de Sink y Feldman (2004)



Se presentan como células granulares, forma redondeada mono o polinucleada, de tamaño intermedio entre los eritrocitos y las células epiteliales. A veces es difícil la diferenciación entre ambas tipos de células (eritrocitos y leucocitos), es de utilidad la adición de 1 a 2 gotas de ácido acético al 25%, con ello se hemolizaran los eritrocitos y se destacaran claramente los núcleos de los leucocitos (Messeguer *et al*. 1992).

Es normal que aparezcan 2-3 leucocitos por campo en machos y hasta 7 por campo en hembras. Toda cifra superior se considera patológica. Aparece en las siguientes situaciones:

- Infecciones acompañadas de bacterias (si se aprecian cilindros, el origen es una infección renal).
- Infecciones tuberculosas (piurias sin bacterias y orinas acidas).
- Tumores renales o de las vías (uroepiteliales).
- Síndrome nefrótico y glomerulonefritis.

❖ Las Piurias indican un proceso purulento en algún lugar del tracto genito-urinario; la orina aparece turbia y de aspecto lechoso.

- ➢ Contaminación procedente del tracto genital: Vulvitis, Vaginitis, Balanitis, Metritis.
- ➢ Uretritis.
- ➢ Cistitis.
- ➢ Pielitis o Pielonefritis.
- ➢ Nefritis.

4.5.1.3. Cilindros Tubulares

Son formaciones de proteínas y mucopolisacaridos, que se forman a nivel del Asa de Henle, Tubos Contorneados y Tubos Colectores; también puede llevar adheridos restos celulares que se condensan dentro del lumen de los túbulos (Messeguer *et al*. 1992).

Las causas de formación de cilindros son:

- ➢ Por descamación celular de los túbulos, que suministrarían el material de la matriz y cuando estas células se degeneren, se producirán los cilindros.

- Una segunda teoría, la cual es la aceptada actualmente; atribuye la formación de cilindros a precipitaciones de mucoproteinas dentro de los túbulos debido, a que en estos niveles la concentración y acidez de la orina están a su máximo.

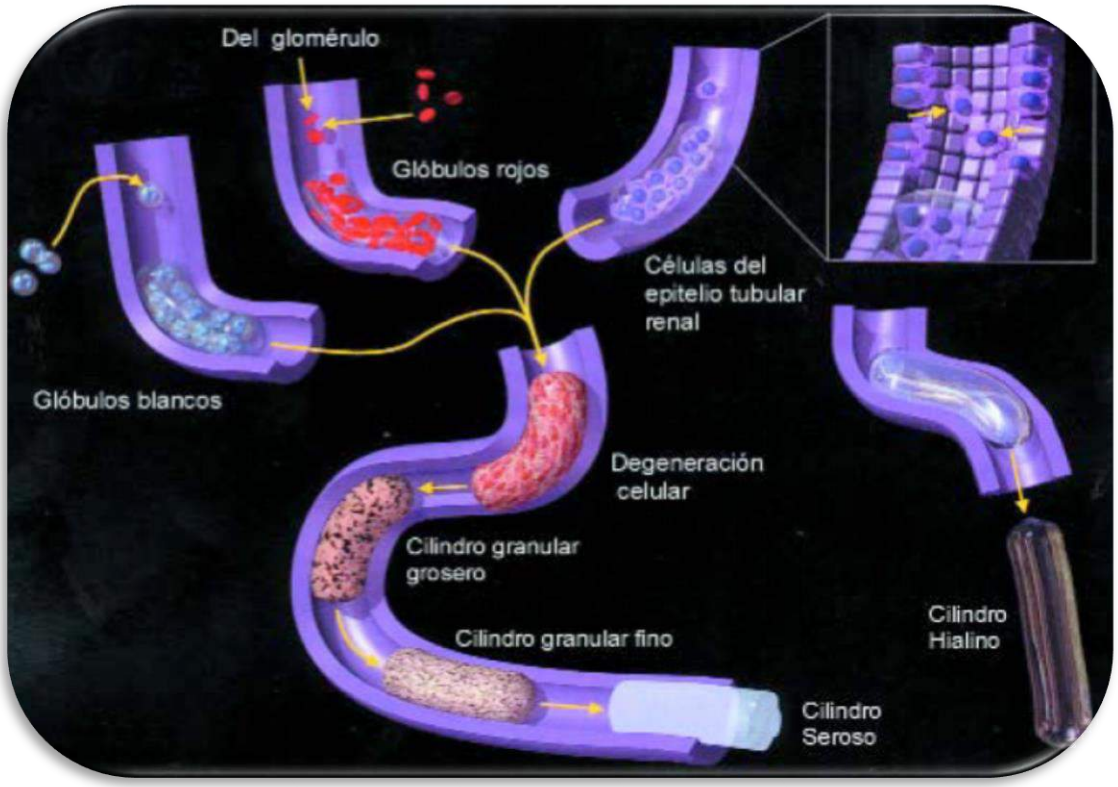


Fig. 3.15. Teoría de Addis para la Formación de Cilindros. Tomado de Chew y DiBartola (1998)

Normalmente cuando se aprecien cilindros en el sedimento, la tasa de proteínas en la orina, esta aumentada. Cualquier lesión mínima llevara a la consecuencia de perdida de albumina y con ello a la formación de cilindros.

Según Benjamín (1962) la presencia de cilindros en la orina puede indicar grados variables de alteraciones renales, como pueden ser: Irritación renal, Inflamación renal, Degeneración renal.

El tamaño y morfología de los cilindros están en función de su origen, y los hay de muy diversos tipos. Los cilindros que contienen sustancias adicionales reciben el nombre de los elementos añadidos: céreos, epiteliales, eritrocitarios, leucocitarios o granulares.

A. Cilindros Hialinos

Contienen solamente proteínas y mucopolisacaridos, homogéneos, de extremos redondeados, semitransparentes e incoloros. Todos los demás cilindros tienen una matriz hialina, a la que se insertan otros materiales. Soluble en orina alcalina, por tanto su presencia en la orina de grandes animales es rara; se deben visualizar en campo oscuro. Presencia de pocos hialinos no es patológica, pues puede ser por irritación renal ligera, por estados febriles, tras anestesia o tras ejercicio intenso. En cambio en grandes cantidades indican lesión renal (Benjamín 1962).

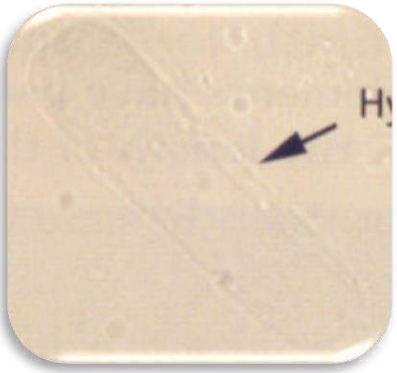


Fig. 4.16. Cilindro Hialino. Tomado de Sink y Feldman (2004)

B. Cilindros Gránulos-Hialinos

Son cilindros hialinos que además llevan granulaciones en la superficie, de origen variado (minerales, células degeneradas, etc.). La misma interpretación que los cilindros hialinos.

C. Cilindros Granulomatosos

Contienen granulaciones finas o gruesas cubriendo todo el cilindro, que proceden de la degeneración de las células epiteliales. Indican un tipo más grave de afección renal que el cilindro hialino, ya que suponen una desintegración del epitelio tubular renal. Aparece en los casos de trastornos crónicos del riñón (nefritis intersticial crónica) e insuficiencia renal en el perro (Messeguer *et al.* 1992).

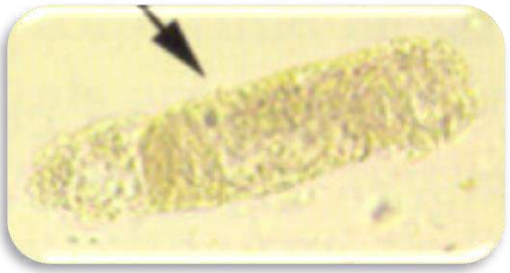


Fig. 4.17. Cilindro Granulomatoso. Tomado de Sink y Feldman (2004)

D. Cilindros Epiteliales

Estructuras cilíndricas formadas por células desprendidas del epitelio que reviste los túbulos renales, en cuyas células pueden observarse los núcleos. Se presentan en 2 filas de células epiteliales. Su presencia es indicativo de: Nefritis Aguda, Degeneración del epitelio tubular, síndromes de hipertensión prolongada e ingestión de venenos (fosforo, tetracloruro de carbono, cloruro mercúrico).

E. Cilindros Céreos

Son cilindros formados por la coagulación de beta-lipoproteínas, de color amarillo o grisáceo y con aspecto opaco; más anchos que los Cilindros Hialinos, fuertemente refringentes, a menudo quebrado y con los extremos rectos. Indican lesiones crónicas en los túbulos renales, degeneración amiloide y formas muy graves de glomerulonefritis y pielonefritis.

F. Cilindros Granulo-Lipídicos

Son cilindros hialinos que han absorbido granulaciones lipídica, incoloros y que les da aspecto de cuerpos refringentes. Aparecen en casos de Diabetes Mellitus en perros, Nefrosis e Hiperlipemias o Hipercolesterinemias.

G. Cilindros Hemáticos

Son cilindros hialinos que han absorbido en su superficie hematíes. Pueden ser de 2 tipos:

- Cilindro de Sangre: masa homogénea y de color amarillo intenso o anaranjado. En enfermedades renales a nivel glomerular (glomerulonefritis).
- Cilindro Hialino de Gl. Rojos: De color amarillo anaranjado y en su superficie tiene incrustado eritrocitos visibles. En hemorragias que se han originado dentro del nefrón del riñón y procesos invasivos intersticiales (tumor renal, litiasis).

H. Cilindros Leucocitarios

No se trata realmente de cilindros, son más acúmulos de leucocitos que se forman a nivel de vejiga y uréteres, y que se adhieren a la masa hialina. Se presentan en los casos de procesos supurativos del riñón, pielonefritis, abscesos del riñón (Messeguer *et al*. 1992).

I. Cilindros Bacterianos

Formados por fibras de microglobulinas con bacterias y leucocitos, y que indican pielonefritis.

4.5.1.4. Cilindroides

Formaciones similares a los Cilindros pero más largos y finos, pero que suelen proceder de las vías urinarias (pelvis, uréter, uretra) y no del riñón. Semejan específicamente a los Cilindros Hialinos, pero en uno de sus extremos se adelgaza hasta terminar en un fino filamento. Su presentación se debe a la presencia de un factor irritante o cuerpo extraño. En la orina no se detecta proteína, lo cual es un dato esencial para diferenciar de los Cilindros; aunque es de escasa significación clínica (Messeguer *et al*. 1992).

4.5.1.5. Filamentos Mucosos

Están compuestos por moco que ha sido depositado en filamentos largos. Son fáciles de confundir con los cilindros hialinos, pero difieren de ellos en que están trenzados a modo de cintas estrechas, ondulantes y retorcidas, que tienen una estructura interna de tipo fibroide.

Es normal encontrarlo en la orina de los Equinos, el cual aparece homogéneo. Debe observarse bajo luz amortiguada. Su presencia no otorga significancia patología en los equinos, más sin embargo en los demás animales puede ser indicio de irritación de la uretra, pero generalmente se debe a contaminación de la muestra de orina por secreciones genitales (Benjamín 1962).

4.5.1.6. Microorganismos Varios

La orina puede contener un gran número de microorganismos, que pueden indicar un proceso patológico propio del tracto urinario o contaminación ambiental.

A. Bacterias

Aparecen como pequeñas partículas, que poseen movimientos brownianos o rectilíneos; apenas visibles con el objetivo de bajo aumento y deberán ser diferenciadas del material amorfo, inorgánico, por su estructura y agrupación. La morfología hará fácil su identificación, pero su tinción la hará más precisa, utilizando la tinción de Gram.

Clínicamente solo tendrán significancia clínica, si aparecen en cantidad abundante y la muestra fue obtenida en buenas condiciones (lo más aséptica posible). Procesos en los que pueden aparecer son:

- Infecciones del tracto urinario (Cistitis y Pielonefritis).
- Infecciones del tracto genital (Metritis, Vaginitis, Prostatitis).

B. Hongos/Levaduras

Los hongos se presentan como hifas separadas, segmentadas y a veces coloridas. Las Levaduras son incoloras, redondas u ovoides; de tamaño variable, mayor que las bacterias pero menor que los leucocitos.

Solo tienen importancia diagnostica las levaduras, que aparecen como elementos similares a los hematíes pero incoloros. Para distinguirlos se hará una tinción de Gram. Las levaduras se encuentran en piel, mucosas (vagina) y tracto intestinal, por tanto su presencia indica contaminación de contacto.

C. Parásitos

Entre los parásitos que se pueden encontrar con mayor frecuencia están: *Capillaria plica* (gusano de la vejiga de los caninos y felinos), *Dictophyma renale* (en riñón de los caninos) y *Stephanorus dentatus* (en riñón de los porcinos); los demás géneros que podamos encontrar indican contaminación fecal. Entre los Protozoarios que podemos encontrar tenemos: Trichomonas procedentes de contaminación por secreciones genitales, mientras que las Giardias y Entamoebas proceden de contaminación fecal.

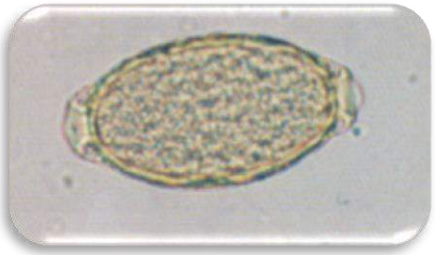


Fig. 4.18. *Capillaria plica*. Tomado de Sink y Feldman (2004)

4.5.1.7. Espermatozoides

De características morfológicas inconfundibles; con una cabeza pequeña, ovalada seguida de una larga cola móvil. No tienen ninguna significancia patológica.

4.5.1.8. Restos Fecales

Contaminan la orina y aparecen en el sedimento, las siguientes estructuras:

- Fibras musculares: procedentes de la digestión alimentos cárnicos, de color amarillo con estriaciones.
- Fibras y tráqueas vegetales: celulosa indigestible.
- Células vegetales: con membranas citoplasmáticas gruesas y vacuolas muy evidentes.
- Pelos y apéndices vegetales: alargados, afilados, formados por una fila de células de paredes gruesas.
- Gránulos de almidón.
- Algunos parásitos: como Giardia.

4.5.2. Estructuras No Organizadas

4.5.2.1. Elementos Mineraloides

Comúnmente se ven cristales de distintas formas y tamaños en la orina, solo raramente tiene significación clínica. Se forman por precipitación de sales excretadas cuando la orina se retiene en la vejiga o en el vaso de recolección (Messeguer *et al*. 1992).

Según Núñez y Bouda (2007) la observación de cristales en el sedimento urinario dependerá de:

- pH urinario.
- Concentración urinaria.
- Presencia de promotores e inhibidores de cristales en la orina.
- La temperatura puede favorecer la formación de cristales (refrigeración antes del análisis).
- Tiempo entre la recolección y realización del análisis.

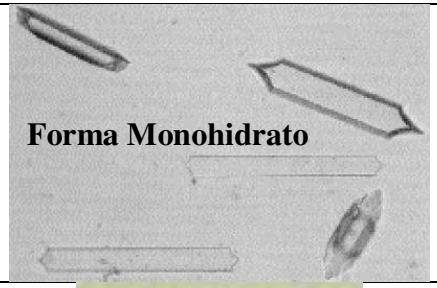
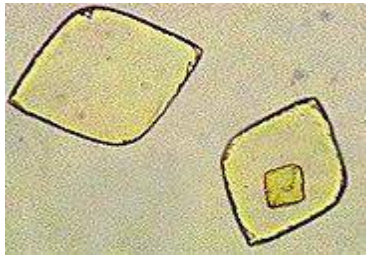
La cristaluria se presenta generalmente en orina refrigerada, puede no ser observada en la misma muestra si es analizada enseguida; luego de la recolección. La cristaluria en la orina que ha sido refrigerada, es de escaso significado clínico (Chew y DiBartola 1998).

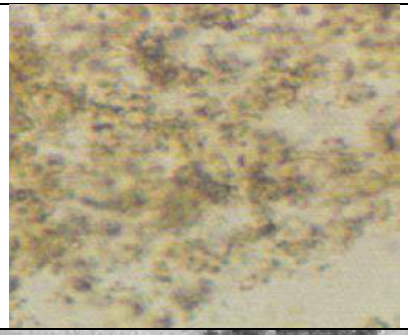
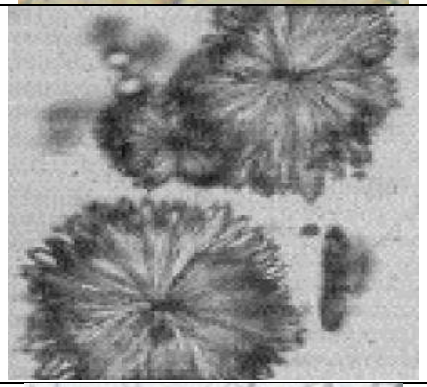
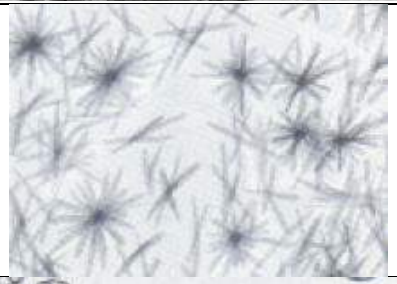
Los diferentes cristales en el sedimento urinario se pueden dividir en 3 tipos, según sea la fase de cristalización a la que reaccionen; su clasificación es como sigue:

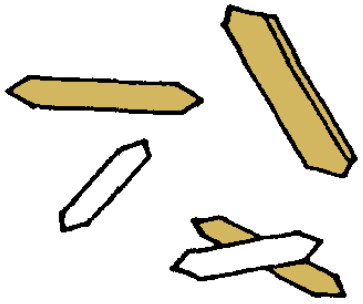
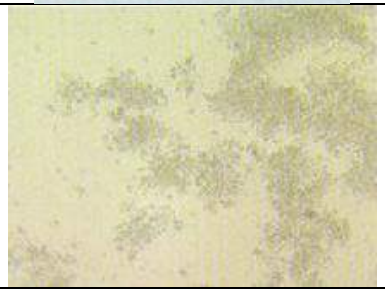
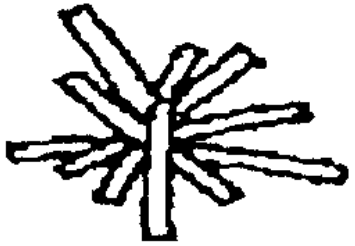
- Compuestos de Predominio Acido: sustancias cuya fase de cristalización se encuentran en pH inferior a 7.
- Compuestos de Predominio Básico (Alcalino): sustancias cuya fase de cristalización se encuentran en pH superior a 7.
- Compuestos Anfóteros: sustancias cuya fase de cristalización se encuentran en pH entre 6-6.5 o 7.5-8.

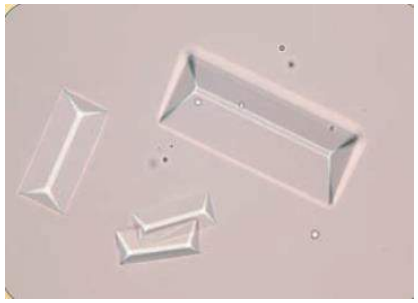
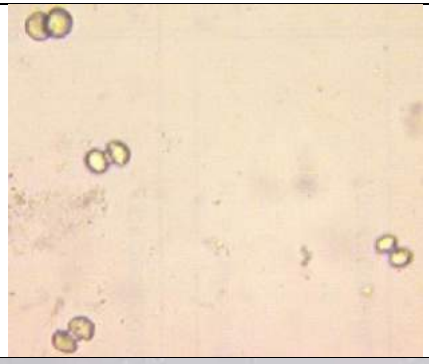
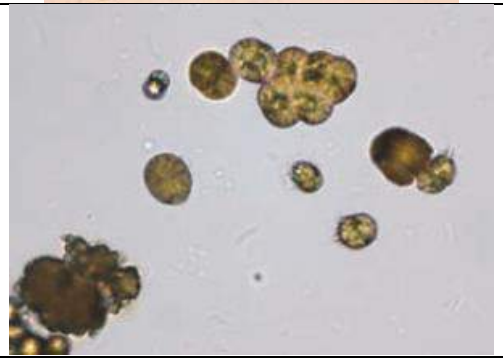
La identificación del tipo de cristales se hace a través de su morfología, por esto para un mejor análisis de los diferentes cristales que se pueden encontrar en el sedimento urinario, se describirá su morfología e interpretación en el cuadro “3.6. Cristales en el Sedimento Urinario”.

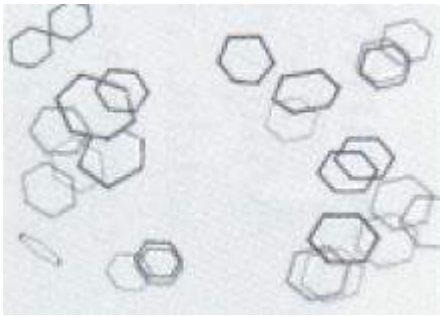
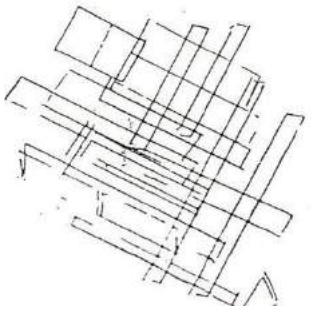
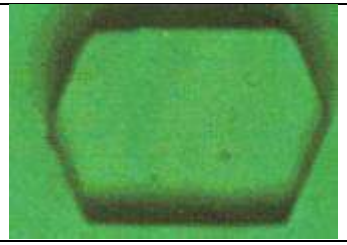
Cuadro 4.6. Cristales en el Sedimento Urinario

Cristal	Imagen	Fase de Cristalización	Color	Morfología	Interpretación
Oxalatos Cálcicos Mono y Dihidratados	 **Forma Monohidrato** **Forma Dihidrato**	Acido	Incoloro	De varias formas; octaedros o sobres de carta	Si aparece en gran número se sospecha de: • Diabetes Mellitus • Enfermedades Hepáticas, Cardiacas o Pulmonares
Ácido Úrico		Acido	Amarillo	Morfología variable: prisma, rombo, roseta o fusiforme	Aparecen en perros dálmatas de forma fisiológica. Clínicamente indican: • Nefritis Crónica • Cuadros urémicos • Procesos febriles agudos

Uratos Amorfos		Acido	Amarillo parduzco	Cristalizan en forma de agujas o estrellas, se observan al microscopio con aspecto de precipitado amorfo	No poseen significancia clínica
Sulfamidas		Acido	--	Forma semejante a los uratos de sodio y ácido úrico	--
Cristales de Tirosina		Acido	Incoloro	Forma de pequeñas agujas que se agrupan en haces estrelladas	• Enfermedad hepática grave • Error congénito que afecta a estos aminoácidos
Cristales de Leucina		Acido	Amarillo	Aspecto de glóbulos redondeados con estriaciones interiores	

Cristales de Acido Hipúrico		Acido	Amarillo	Aspecto de prismas aciculares; se pueden confundir con Oxalato Cálcico forma Monohidrato	Normal en Rumiantes y Equinos Intoxicación con Tolueno
Cristales de Bilirrubina		Acido	Pardo rojizo	Forma de agujas con color marrón-rojizo	Pacientes con Bilirrubinemia
Fosfocarbonatos		Básico	Incoloro	Semejante a los precipitados de uratos amorfos, se diferencia en que en que tienen hábitat alcalino, no son nunca coloreados	No poseen significancia clínica
Fosfato Cálcico		Básico	--	Formas estelares (de roseta o estrellados) y en forma de laminas	• En procesos metabólicos patológicos como hipercalciuria, hiperfosfaturia • En ciertas alteraciones del tracto urinario como obstrucciones y estasis urinarias

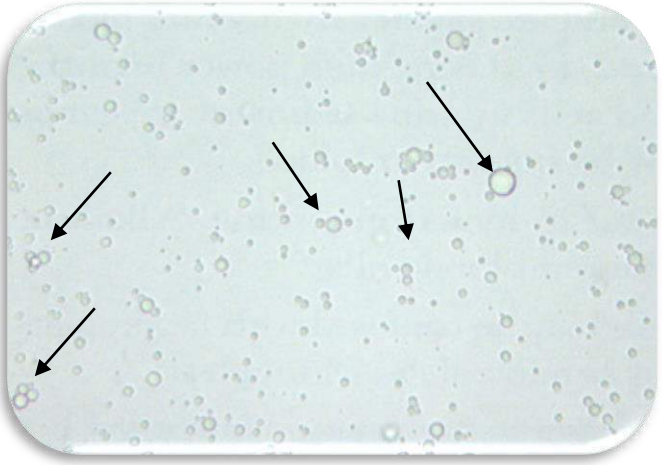
Fosfatos Amonico-Magnesico (Estruvita o Fosfato Triple)		Básico	Incoloro	El mas pleomorfico, su forma prismática le da aspecto de "tapa de ataúd" (forma poliédrica de 8 prismas); pero si se rompe puede tener formas muy diferentes y fácilmente confundibles con el ácido úrico Hay una forma rara, que es la tubular en forma de "hojas de helecho"	• En proceso infeccioso del tracto urinario debido a gérmenes uroliticos, como los casos de cistitis, prostatitis • Contaminantes ambientales, si la muestra tarda en realizarse o se mantiene a temperatura ambiente • La forma de «hojas de helecho», no se haya en orinas de individuos sanos
Carbonato Cálcico		Básico	Incoloro	3 formas: romboédrica, hexagonal, ortorrómbica (las 2 últimas propias de rumiantes)	Normal en orinas de herbívoros
Urato Amónico		Básico	Amarillo parduzco	Gránulos redondeados con o sin espículas, fuertemente estriados a partir de un radio central (radio de bicicleta)	No tienen mucha importancia clínica Pueden estar asociados a infecciones del tracto urinario, por bacterias con ureasa

Cistina		Anfóteros	Incoloro	Forma de láminas hexagonales	• Incapacidad de reabsorción tubular de este aminoácido • Defecto enzimático congénito que imposibilita su correcta utilización • Cistinuria o Urolitiasis de Cistina
Colesterina		Anfóteros	Incoloro	Forma de placas rectangulares o romboideas	• Obstrucción abdominal o torácica del drenaje linfático • Rotura de vasos linfáticos a nivel de la pelvis renal, por tumores invasivos o procesos infecciosos acompañados de litiasis como Pielitis, Nefritis y Cistitis
Creatinina		Anfóteros	--	Rectangulares, biaxiales, pseudo-hexagonales	Procedente de la destrucción muscular, por lo que estará aumentado en: • Distrofias musculares • Miositis difusas

Fuente: Benjamin (1962), Messeguer *et al.* (1992), Chew y DiBartola (1998) y Sink y Feldman (2004)

4.5.2.2. Gránulos O Filamentos Orgánicos

Fig. 4.19. Gotas de Grasa. Tomado de Sink y Feldman (2004)



A. Gránulos De Grasa

a. Gotas de grasa

Constituidas mayormente por vaselina y parafina. De morfología redondeada, incolora, fuertemente refringentes y de tamaño variable. Aparecen a consecuencia de la utilización de catéteres lubricados y empleo de recipientes sucios para la recogida de orina.

Debe tenerse cuidado de no confundirlos con eritrocitos; su diferencia radica en la falta de uniformidad de sus dimensiones y en que no se rompen por la adición de ácido acético. Carecen de significación clínica.

b. Corpúsculos lipídicos

Compuestos por alfa-1 y beta-lipoproteínas, normalmente agregadas a cilindros, leucocitos o células epiteliales. Morfología redondeada y de tamaño menor que las gotas de grasa, incoloros y se pueden confundir con los hematíes. Su presencia indica el grado de alteración del glomérulo. Aparecen en la obesidad, diabetes, hipotiroidismo y dietas excesivamente grasas.

c. Esteres de ácidos grasos

Gránulos de tamaño similar al de los leucocitos, que acompañan a la cristaluria del colesterol. Morfología de cruz de malta.

B. Gránulos Amiláceos

Semejantes a los hematíes pero sin significancia patología. Para diferenciarlos podemos utilizar cualquier sustancia que actué lisando los hematíes.

C. Mucina

Secreción del uroepitelio y de las glándulas anexas, tiene función lubrificadora. Aparece en orinas en pequeñas cantidades. Se observa como líneas imprecisas que se extienden en todas direcciones y dan la sensación de no poder enfocar bien.

D. Gránulos de Almidón

Normalmente son contaminantes externos, se observan como gránulos redondeados, ovalados o poliédricos; del tamaño de un leucocito. Para diferenciarlo de otras estructuras, se adiciona unas gotas de lugol, mediante las cuales los gránulos de almidón se teñirán de color violeta.

4.6.3. Artefactos y Materiales Extraños

Aquellos elementos o estructuras ajenos a la orina y que además no presentan un valor patológico ni en el tracto urinario ni el organismo.

Según Messeguer *et al.* (1992) entre los principales orígenes de estos artefactos están:

- En los frascos de recogida: polen, cabellos, mohos, algas
- Artefactos propios del animal: pelos, hilos de algodón, fibras sintéticas, polvos secantes (talco)
- Artefactos propios del medio ambiente: ceniza, carbonilla, caspa
- Artefactos de la propia observación: partículas de vidrio, gotas de aire, portaobjetos con rayaduras.

CAPITULO V.

EXAMEN DE PIEL

5.1. GENERALIDADES

La piel es el mayor de los órganos del cuerpo y realiza varias funciones vitales destinadas a mantener el estado homeostático del organismo. Entre las principales funciones de la piel se encuentran:

Cuadro 5.1. Funciones de la Piel Relacionadas con la Homeostasia

Función	Serie de Actividades
Barrera	Control de la pérdida de agua, electrolitos, etc. Exclusión de agentes químicos, físicos y biológicos.
Sensación	Calor, frio, dolor, picor y presión.
Regulación de la Temperatura	Aislamiento, variación del flujo sanguíneo y sudación.
Control Hemodinámico	Cambios vasculares periféricos.
Secreción, Excreción	Función glandular, crecimiento folicular y epidérmico. Perdida percutánea de grasas, lípidos y solutos.
Síntesis	Vitamina D.
Función Inmune	Vigilancia, respuesta.

Fuente: Locke *et al*. (1999)

La piel esta compuestas por 3 capas, la Epidermis, Dermis y Subdermis; las cuales tienen composición y funciones determinadas. Además también está compuesta por sus derivados como son; el Pelo y las Glándulas Cutáneas (Lamping y García 1996).

- Epidermis que forma la capa superficial, y por tanto sometida a diferentes factores químicos, físicos y biológicos. Por tanto debe proteger su integridad mediante la secreción continua de componentes protectores, como son el pelaje, células queratinizadas del estrato corneo y las secreciones de las glándulas cutáneas.

- Dermis es el mayor de los componentes estructurales de la piel. Aporta una matriz de estructuras y secreciones que sirven de soporte y mantienen una interacción con la epidermis y sus anejos. Incluye tejido conectivo, vasos sanguíneos y linfáticos, nervios y receptores, y componentes celulares. Cumple un importante papel en la termorregulación y sensibilidad (Lloyd 1992).

- Subdermis compuesta de tejido conjuntivo en el cual se acumulan, reservas de grasa subcutánea; la subdermis no existe en los labios, nariz, morro, cejas y otros lugares en los que penetran las asas musculares en el

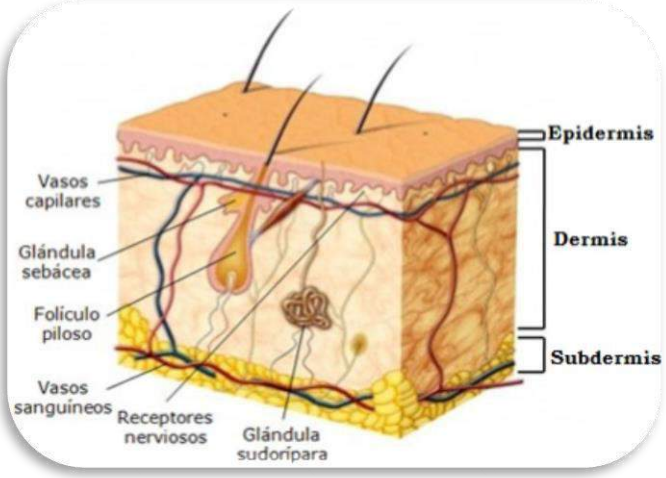


Fig. 5.1. Estructura de la Piel

corion. Reviste de importancia ya que permite el deslizamiento de la piel sin que se desgarre (Lamping y García 1996).

- El Pelo: consta de 3 partes; la Raíz del Pelo que se encuentra en el espesor de la piel, el Tallo del Pelo la cual es la parte libre que sobresale de la superficie epidérmica y la porción terminal a la que se le denomina Vértice del Pelo.

  - La Raíz, se aloja en el folículo piloso, cuya pared consta de las vainas epiteliales interna y externa, y la bolsa conjuntiva pilosa; en cada folículo piloso existe un musculo, cuya contracción eriza el pelo.

  - Según Lamping y García (1996) por la longitud, grosor, resistencia, elasticidad y región corporal que ocupan se pueden distinguir varios tipos de pelo; como son: Pelos de Cubierta, Pelos Vellosos o Lana, Pelos Largos, Cerdas, Pelos Táctiles o Sinuales, Pelos Sensibles, Pelos Defensores (Vellosidades).

- Glándulas Cutáneas; la piel incorpora diversas glándulas exocrinas tubulares y alveolares que pueden emerger en el folículo piloso (glándulas pilosebáceas o epitriquiales) o independientemente, en la superficie cutánea de zonas glabras (glándulas atriquiales o libres).

  - Glándulas Sudoríparas: aporta humedad que ayuda en la protección contra la fricción, mantener la flexibilidad de la piel, excreción de productos de deshecho, defensa química a través de la producción de sustancias. Las sales y proteínas presentes proveen de una fuente de nutrientes para la microflora de la piel y contribuyen en el efecto del tampón del pH cutáneo. Esta secreción, solamente tiene importancia en la función de termorregulación en los equinos, bovinos y algunos primates.

  - Glándulas Sebáceas: mayores en áreas con baja densidad de folículos pilosos y se hallan en mayor número en las uniones mucocutáneas, espacios interdigitales, en el dorso del cuello, en el mentón y en el dorso de la cola (glándula de la cola). Colabora en la formación de la barrera cutánea, protegiendo contra la proliferación e invasión de microorganismos patógenos a través del estrato corneo y del folículo piloso. Contribuye conjuntamente con el sudor en el mantenimiento y control de la flora normal de la piel, ayuda en el control de la perdida de agua y mantiene flexibilidad cutánea.

Aunque una historia y un examen clínico completo son esenciales para un caso dermatológico, las investigaciones a través de exámenes complementarios son de importancia fundamental para alcanzar un diagnóstico definitivo.

Entre los procedimientos diagnósticos preestablecidos en Dermatología incluyen: Muestras de Pelo, Raspados Cutáneos, Citología de Extendidos y Aspirados, Tricogramas, Examen con Lámpara de Wood, Cultivos de Hongos, Biopsias de Piel y Cultivos Bacteriológicos. Otros procedimientos diagnósticos especializados incluyen Pruebas Intradérmicas, Pruebas Alérgicas *in vitro* y pruebas de parches.

Procedimientos como Prueba de Fluorescencia, Raspados Cutáneos, Tricogramas, Cultivos de Hongos, Citología de la Piel, pueden ser realizados dentro de la clínica; mientras que Cultivos Bacteriológicos, Identificación y Pruebas de Sensibilidad, Pruebas Alérgicas In Vitro, Biopsias e interpretación requieren

instalaciones y personal calificado. Dependiendo de la información obtenida, algunas interpretaciones frecuentemente requieren a un patólogo clínico.

5.2. IDENTIFICACIÓN DE DERMATOFITOS

La Dermatofitosis se caracteriza por lesiones redondas con alopecia, eritema, reacciones inflamatorias. Son causadas por un grupo de hongos queratinofilicos, llamados Dermatofitos, caracterizados por su parasitismo, que prefiere el epitelio queratinizado, pelo y uñas. Existen 22 especies de dermatofitos patógenos que pertenecen a los géneros *Epidermophyton*, *Microsporum* y *Trichophyton*. Los dermatofitos patógenos para los animales se encuentran en los géneros *Microsporum* y *Trichophyton* (Medway *et al*. 1973).

Cuadro 5.2. Principales Especies de Dermatofitos de los Géneros *Microsporum sp.* y *Trichophyton sp.*

Genero	*Microsporum sp.*	*Trichophyton sp.*
Especies	*M. canis*	*T. mentagrophytes*
	M. gypseum	*T. verrucosum*
	M. nanum	*T. equinum*
	M. distortum	*T. rubrum*
	M. vanbreusegheimii	*T. schoenleinii*
		T. violaceum
		T. ajelloi

Fuente: Medway *et al.* (1973)

La identificación de los diferentes dermatofitos, se basa en el raspado de las lesiones y la observación de las diferentes especies de hongos al microscopio, para su identificación a través de sus características particulares. La identificación microscópica de dermatofitos es muy difícil, requiere entrenamiento y experiencia importante (Benjamin 1962).

A. Aspecto a Simple Vista según Benjamín (1962)

La mayor parte de los Dermatofitos ofrece un cuadro clínico que evidencian al agente causal de la enfermedad:

- En Caninos: se muestran lesiones circulares con pérdida de pelo o pelos frágiles quebrados cubiertos de escamas o costras; generalmente en la cabeza, aunque también pueden ocurrir en el cuerpo, extremidades o la cola. En ocasiones la lesión puede estar completamente expuesta y libre de escamas.
- En Felinos: lesiones circulares sin pelo y cubierta de escamas, por regla general en la cabeza. Pueden darse infecciones sin lesiones visibles, que solo es posible reconocer con la Lámpara de Wood y Cultivo.
- En Equinos: lesiones circulares o de forma irregular, con pérdida de pelo acompañada de espesas costras grises, ubicadas en áreas en que la silla o la brida rozan la piel, o a veces en la cabeza.

Fig. 5.2. Dermatofitosis en un Bovino

- En Bovinos: lesiones circulares sin pelo cubiertas de costras grises espesas, localizadas en la cabeza o cuello.

B. Características Microscópicas de los Dermatofitos

Los dermatofitos aparecen como entidades morfológicas definidas y no deben ser confundidas con burbujas de aire, gotas de grasa, etc.

Se observan en las costras o dentro de los tallos del pelo cerca de la porción basal de la raíz, como elementos miceliales, estrechamente tabicados, hialinos; o como cadenas o vainas de esporas (artrosporas) en la superficie externa del pelo. El tamaño de la espora varía con la especie de dermatofitos. Las artrosporas de las especies de *Microsporum* tienden a ser más pequeñas que las especies de *Trichophyton* (Medway *et al.* 1973).

Los *Trichophyton* poseen forma alargada, en forma de cigarro de habano, pared lisa y tiene microconidas de forma variada; mientras que los *Microsporum* tienen macroconidios fusiformes con ornamentación en la superficie (McCurnin 1987).

Cuadro 5.3. Caracteres Diferenciales de los Dos Dermatofitos Comunes

Pelos	*Microsporum canis*	*Trichophyton mentagrophytes*
Fluorescencia	Verde amarillento	Ninguna
Artrosporas	Mosaico de pequeñas artrosporas (2-3 micras) envolviendo el pelo como un forro	Cadenas de artrosporas grandes (3-5 micras) en filas paralelas
Microconidias	Pocas si las hay (nacen a los lados)	Numerosas (de todos los microorganismos patógenos es el que produce más), nacen separadas y en racimos
Macroconidias	Numerosas Grandes Fusiformes Segmentadas por múltiples tabiques Protuberancias en los extremos De paredes gruesas	Raras Tamaño menor que el *Microsporum* Forma de clava Multitabicadas De paredes delgadas

Fuente: Benjamin (1962)

5.2.1. Prueba de Fluorescencia

Consiste en examinar mediante la utilización de la "Lámpara de Wood", la cual produce una fuente de luz ultravioleta filtrada, que causa fluorescencia de los pelos infectados por ciertos dermatofitos. Este procedimiento es relativamente simple de realizar, pero la interpretación está cargada de dificultad (Medway *et al.* 1973).

La Lámpara de Wood es una lámpara con luz especial que posee un filtro de cobalto o níquel que genera luz UV a 253.7 nm. El propósito primordial del examen con lámpara

Fig. 5.3. Lámpara de Wood. Tomado de Colombini (2005)

de Wood, es la identificación de ciertos Dermatofitos (Primariamente *Microsporum canis* y *M. audouinii* y ocasionalmente *M. distortum* y *Trichophyton schoenlinii*); que producen un producto derivado (metabolito triptofano) que fluoresce en color verde amarillento (Ihrke 2010).

❖ **Procedimiento**

1. La Lámpara de Wood debe encenderse y dejar aclimatarse por 5-10 min.
2. Se examina al paciente en un cuarto oscuro, se inspecciona la piel y pelaje bajo la luz UV de la lámpara de Wood.
   - ✓ La piel y pelos deben ser expuestos a la lámpara durante 3-5 minutos.
3. Los pelos infectados con Dermatofitos positivo, brillaran con una fluorescencia de un amarillo brillante a un amarillo verdoso o verde amarillento (Benjamín 1962).
4. El material que resulta fluorescente, se selecciona para raspaje y realizar la confirmación microscópica.

- Su uso es beneficioso en los casos de enfermedades como, Dermatofitosis (especialmente en gatos); debido a que un alto porcentaje de la dermatofitosis felina es ocasionada por *M. canis* (50 a 60 %).

❖ **Limitaciones del Uso de la Lámpara de Wood (Benjamín 1962)**

- Se limita al reconocimiento de pelo infectado con *Microsporum sp.* principalmente, ya que solo estos producen fluorescencia.
- La fluorescencia característica puede aparecer enmascarada o confundirse con, fluorescencia blanca o azul blanquecina, de las escamas de la piel, de lodo, de uñas, de sustancias que contengan petrolato como base y de otros medicamentos usuales.
- El que no presente fluorescencia, no quiere decir que el paciente esté exento de dermatofitosis.
  - Puede estar infectado por uno de los muchos dermatofitos no fluorescentes.
  - Incluso si la infección es de *Microsporum canis*, un gran número de pelos no presenta fluorescencia.

5.2.2. Método de Examen Directo

El examen microscópico puede confirmar la presencia de dermatofitosis y servir como guía para encontrar el organismo infectante. Si aparecen pelos fluorescentes se debe proceder a hacer el examen, si no aparecen; pero se tiene sospecha, se eligen los pelos deslustrados y partidos o los que presentan en su base un collarejo blanco grisáceo (Benjamín 1962).

5.2.2.1. Técnica para Identificación Directa

❖ **Materiales**

- ✓ Muestra
- ✓ Cubreobjeto
- ✓ Portaobjeto
- ✓ Pipeta de Pasteur plástica
- ✓ Solución de Hidróxido de Potasio 10% (KOH)
- ✓ Mechero de Bunsen
- ✓ Microscopio

♣ Sol. de Hidróxido de Potasio 10% según Coffin (1952)

- Hidróxido de Potasio: 10g
- Agua Destilada: 100 ml

❖ **Procedimiento**

1. Se coloca la muestra de pelos y raspaduras de piel, sobre el portaobjeto; agregue 1 a 2 gotas de Hidróxido de Potasio (KOH) al 10%, el cual cumple su función como agente aclarador (Benjamín 1962).
   - ✓ Si la muestra está muy costrosa, se debe triturar primero. Los pelos pigmentados se blanquean mediante Peróxido de Hidrogeno 3% antes de agregar el KOH (Coffin 1952).
2. Se coloca el cubre objetos, evitando la formación de burbujas; es conveniente sellar los bordes del cubreobjeto usando parafina para evitar la evaporación durante el examen.
3. Se aplica calor suave bajo el portaobjetos, manteniéndolo unos segundos sobre una llama o apoyar el portaobjetos sobre la lámpara del microscopio durante corto tiempo. De no hacer uso de calor dejar reposar la muestra durante 20 a 30 minutos (Benjamín 1962).
4. Examinar al microscopio bajo luz tenue, primero a bajo aumento (10X) para búsqueda de pelos anormales, engrosados con bordes irregulares o que contengan artrosporas.
5. Los pelos sospechosos se examinan a objetivo 40X, para ver los detalles de las esporas e hifas, sobre los pelos (ectotrix) o en el interior de ellos (endotrix).

La preparación puede ser teñida, con "Lactofenol Azul de Cola de Algodón" o "Acido Peryodico de Schiff"; aunque no es necesario ya que para la detección de esporas e hifas, pueden verse con solo alumbrar con luz tenue cuando el pelo ha sido aclarado (Benjamin 1962).

♣ **Lactofenol Azul de Cola de Algodón** según Benjamin (1962)

- Disolviendo 20 g de Fenol Cristalizado en 20 ml de Agua Destilada, con 20 ml de Ácido Láctico y 40 ml de Glicerina; luego se añade 0.05 g de Cola de Algodón (Azul de Anilina W.S., C.I. Nº707) calentando despacio.

5.3. GALERÍA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE DERMATOFITOS

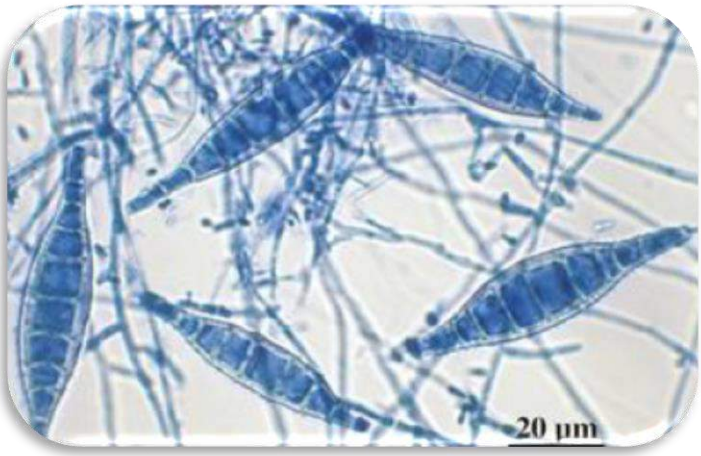


Fig. 5.4. ***Microsporum canis***

Fig. 5.5. ***Microsporum gypseum***

Fig. 5.6. ***Microsporum nanum***

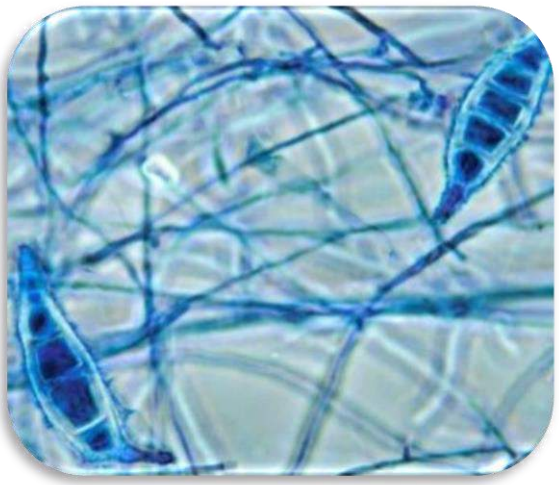


Fig. 5.7. ***Microsporum distortum***

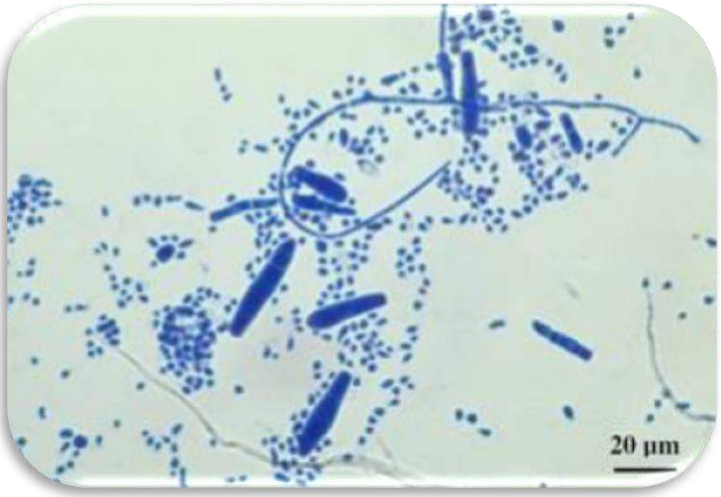


Fig. 5.8. ***Trichophyton mentagrophytes var. granulare***

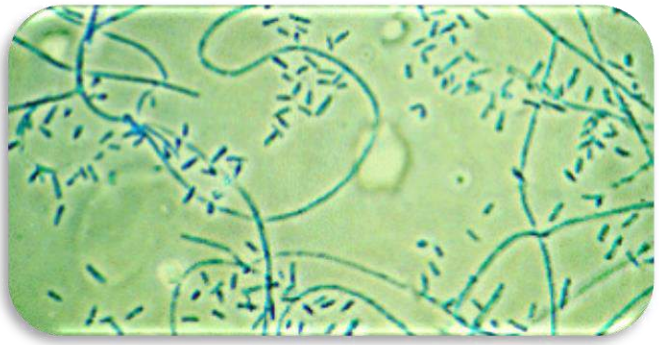


Fig. 5.9. ***Trichophyton verrucosum***

Fig. 5.10. ***Trichophyton equinum***

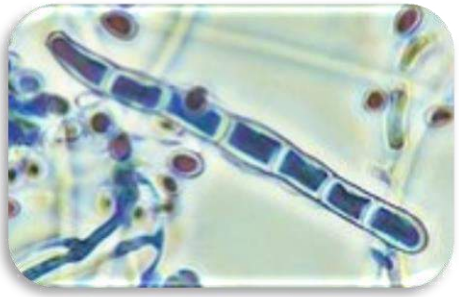
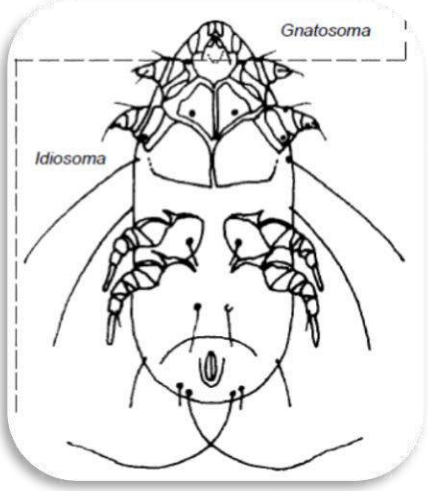


Fig. 5.11. ***Trichophyton rubrum***

Fig. 5.12. ***Trichophyton ajelloi***

5.4. IDENTIFICACIÓN DE ÁCAROS

Fig. 5.13. Regiones del Cuerpo de un Acaro. Tomado de Vignau *et al.* (2005)



Los ácaros de la Sarna son pequeños, solo *Psoroptes sp.* y *Chorioptes sp.* pueden verse a simple vista, no obstante son difíciles de encontrar en lesiones costrosas o crónicas. La búsqueda debe realizarse mediante el raspado de la piel enferma y su examen microscópico. La habilidad para identificar y diferenciar ectoparásitos es muy importante y relativamente fácil de aprender (Vignau *et al*. 2005).

5.4.1. Especies de Ácaros

5.4.1.1 Familia Sarcoptidae

A. *Sarcoptes scabei*

La infestación por ácaros de *Sarcoptes sp.* se le conoce como Sarna Sarcoptica o Escabiosis, la cual afecta a Bovinos, Ovinos, Equinos, Porcinos y Caninos; por las especies *Sarcoptes scabei var. bovis, Sarcoptes scabei var. ovis, Sarcoptes scabei var. equis, Sarcoptes scabei var. suis y Sarcoptes scabei var. canis* respectivamente. Se halla en las zonas del cuerpo de escaso pelo, en las capas profundas de la piel donde la hembra abre sus túneles; las otras etapas del ciclo se dan en las costras superficiales.

- El *Sarcoptes scabei*, se transmite a las personas.

Características Principales:

- Mide 150 a 300µ (0.15 a 0.3 mm) de longitud.
- De forma ovalada, cuerpo con múltiples espinas dorsales, ventralmente aplanados y con dorso convexo.
- Poseen 4 pares de patas (2 pares al frente y 2 pares detrás). Los miembros anteriores terminan en procesos largos y tubulares, conocidos como ventosas, y las patas posteriores terminan en cerdas largas.
- Los 2 pares de patas posteriores no se extienden más allá de los márgenes del cuerpo.
- Opérculo anal es ventral.

B. *Notoedres cati*

La infestación por ácaros de *Notoedres cati*, afecta a Felinos. Se halla en la cabeza y cuello de los felinos; y la capacidad para atravesar la piel, similar al *Sarcoptes scabei*.

Características Principales:

- Mide 85 a 250µ (0.085 a 0.25 mm) de longitud.
- Similar al *Sarcoptes sp*, cuerpo con múltiples espinas dorsales; pero difiere en que el opérculo anal es dorsal.

5.4.1.2. Familia Psoroptidae

A. *Psoroptes communis*

La infestación por ácaros de *Psoroptes sp.* se le conoce como Sarna Psoroptica, la cual afecta a Bovinos, Ovinos y Equinos; por las especies *Psoroptes communis bovis* y *Psoroptes communis ovis* respectivamente. Se halla en la cabeza y oreja de los ovinos; en el cuello, cruz y base de la cola de los equinos; cola y base de la ubre de los bovinos. Localizados superficialmente en la piel, viviendo en los surcos formados por su actividad en el huésped.

Características principales:

- Mide entre 300 a 600µ (0.3 a 0.6 mm) de longitud; siendo el mayor de todos los ácaros.
- Gnatosoma largo, opistoma con tubérculos caudales grandes.
- Pedículos triarticulados.
- Es el único acaro que presenta succionadores tarsales originados en pedículos segmentados.

B. *Chorioptes sp.*

La infestación por ácaros de *Chorioptes sp.* se le conoce como Sarna Corioptica, la cual afecta a Bovinos, Ovinos y Equinos; por las especies *Chorioptes bovis, Chorioptes ovis* y *Chorioptes equi* respectivamente. Se halla en la pata y extremidad distal de la misma en los equinos; en la pata y base de la cola de los bovinos; y pata de la oveja.

Características Principales:

- Mide 180 a 400µ (0.18 a 0.4 mm).
- Gnatosoma mediano, y pedículos no articulados.
- Similar al *Psoroptes sp*., excepto que sus elementos de succion se encuentran en pediculos cortos, no segmentados.

C. *Otodectes cyanotis*

La infestación por ácaros de *Otodectes cyanotis* se le conoce como Sarna Otodectica, afecta a Caninos y Felinos. Se halla en la oreja, en la superficie del conducto auditivo externo, en el que produce grandes cantidades de exudado.

Características Principales:

- Mide 280 a 500µ (0.28 a 0.5 mm) de longitud.
- Semejante al *Chorioptes sp.* y casi tan grande como el *Psoroptes sp.*
- Gnatosoma mediano, pedículos no articulados y tubérculos caudales poco desarrollados

5.4.1.3. *Demodex sp.*

La infestación por ácaros de *Demodex sp.* se le conoce como Demodicosis o Sarna Demodectica, la cual afecta a Bovinos, Porcinos, Caninos y Felinos; por las especies *Demodex bovis, Demodex phylloide, Demodex canis* y *Demodex cati* respectivamente. Se halla en los folículos pilosos y glándulas sebáceas, de la cara y otras áreas del cuerpo.

Características Principales:

- Mide aproximadamente entre 200 a 300µ (0.2 a 0.3 mm) de longitud.
- Cuerpo alargado en forma de gusano, idiosoma con estrías transversales en posición dorsal y ventral.
- Patas cortas, apenas esbozadas.

5.4.1.4. *Cheyletiella sp.*

La infestación por ácaros de *Cheyletilla sp.* se le conoce como Cheyletiellosis, la cual afecta a Caninos y Felinos. No penetran la piel, sino que vive en la queratina.

Características Principales:

- Mide aproximadamente 385µ (0.38 mm) de longitud.
- Posee 4 pares de patas, con peines en vez de garras; tienen palpos que terminan en ganchos prominentes.

5.4.2. Métodos para Identificación de Ácaros

De forma similar que en la identificación de Dermatofitos, se realiza el raspado de la lesión y se observa e identifica al microscopio las diferentes especies de Ácaros; útil cuando la muestra es pequeña.

5.4.2.1. Técnica para Identificación Directa

❖ **Materiales**

- ✓ Muestra
- ✓ Cubreobjeto
- ✓ Portaobjeto
- ✓ Pipeta de Pasteur plástica
- ✓ Solución de Hidróxido Potasio al 10% (KOH)
- ✓ Mechero de Bunsen
- ✓ Microscopio

❖ **Procedimiento**

1. Se coloca la muestra sobre un portaobjetos y se agrega unas gotas de KOH al 10%, luego se coloca el cubreobjetos y se presiona ligeramente, evitando la formación de burbujas.
2. Se calienta ligeramente con el mechero bunsen, y se pasa al microscopio.
3. Se observa con objetivo 4X y/o 10X para identificar el acaro.

5.4.2.2. Técnica de la Maceración Alcalina

Esta técnica recurre a una solución alcalina para disolver y limpiar la piel de detritus y pelo. Es el mejor procedimiento de diagnóstico debido a que emplea gran cantidad de material y los Ácaros se destacan en un medio relativamente claro (Coffin 1952).

❖ **Materiales**

- ✓ Muestra
- ✓ Cubreobjeto
- ✓ Portaobjeto
- ✓ Tubo de Ensayo
- ✓ Pipeta de Pasteur plástica
- ✓ Solución de Hidróxido Potasio 5% (KOH)
- ✓ Mechero
- ✓ Soporte Universal
- ✓ Microscopio

❖ **Procedimiento**

1. La muestra de raspado, se coloca en un tubo de ensayo y se agrega Sol. de KOH al 5% en cantidad suficiente para cubrir la muestra completamente.
2. Colocar el tubo de ensayo en un soporte universal y se procede a calentar con un mechero de bunsen.
3. Se calienta cuidadosamente hasta alcanzar el punto en que va a comenzar la ebullición; luego se continúa calentando hasta que se disuelva el pelo (aprox. 5 minutos).
   - ✓ La maceración durante toda la noche es suficiente, sin que haya necesidad de calentar (Coffin 1952).
4. Una vez pasado los 5 minutos, se retira del fuego y se deja reposar unos minutos.
5. Se toma la muestra del sedimento y se deposita en un portaobjeto, posteriormente se cubre con un cubreobjetos; y se pasa a observar al microscopio.
6. Se observa la muestra en el microscopio a 4X y/o 10X; se hace con luz tenue, así los ácaros que sean parcialmente translucido no se pasaran por alto.

5.5. GALERÍA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE ÁCAROS

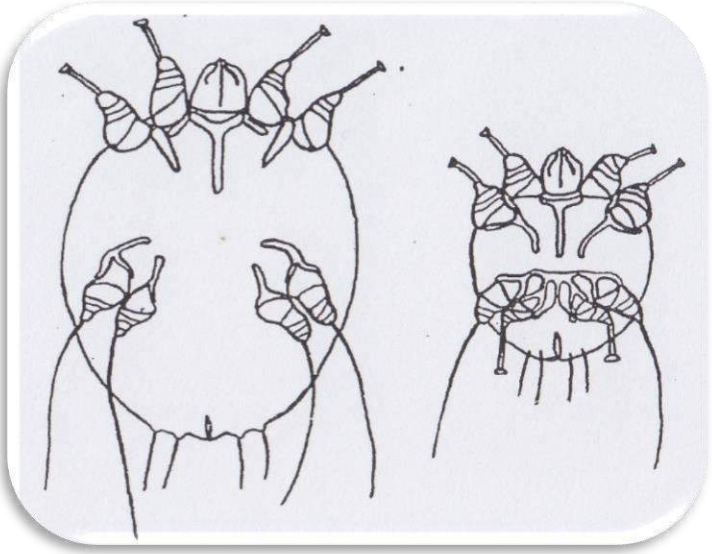
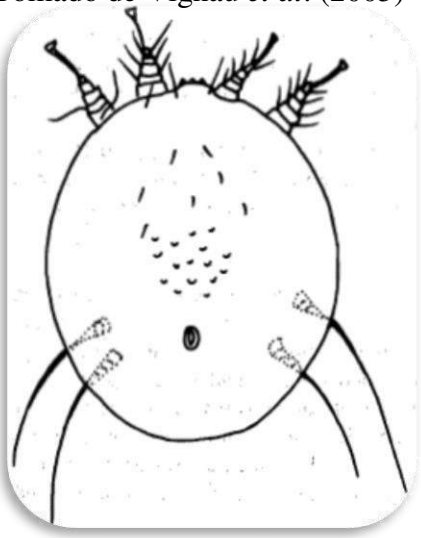


Fig. 5.14. Genero *Sarcoptes*. Hembra (Izquierda), Macho (Derecha). Tomado de Benbrook y Sloss (1966)

Fig. 5.15. *Notoedres cati* Vista Ventral. Tomado de Vignau *et al*. (2005)

Fig. 5.16. *Notoedres cati* Vista Dorsal. Tomado de Vignau *et al*. (2005)



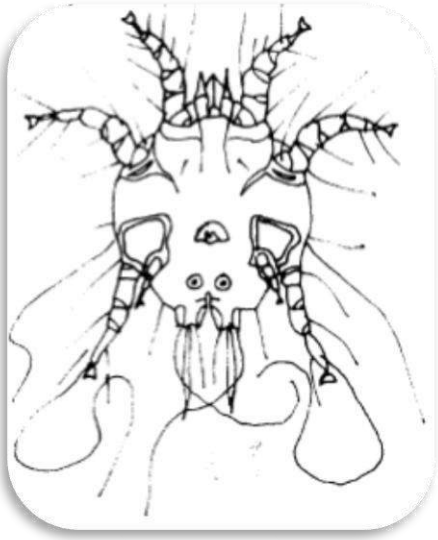


Fig. 5.18. Genero *Chorioptes* Vista Ventral. Tomado de Vignau *et al*. (2005)

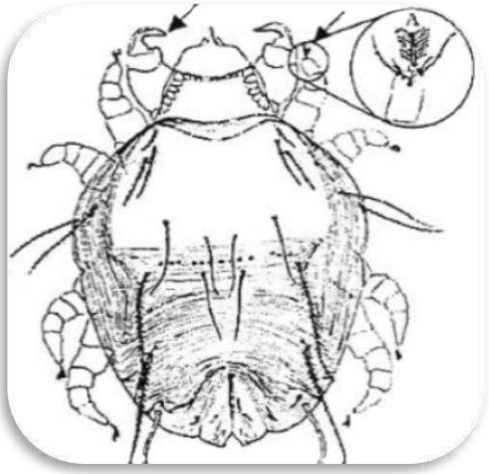
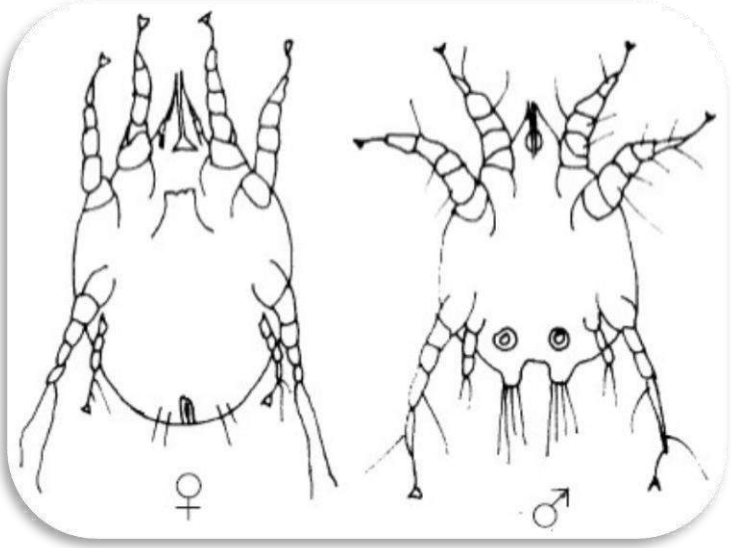


Fig. 5.20. Genero *Cheyletiella* Vista Dorsal. Tomado de Barriga (2002)

Fig. 5.17. Genero *Psoroptes*. Hembra (Izquierda), Macho (Derecha). Tomado de Vignau *et al*. (2005)



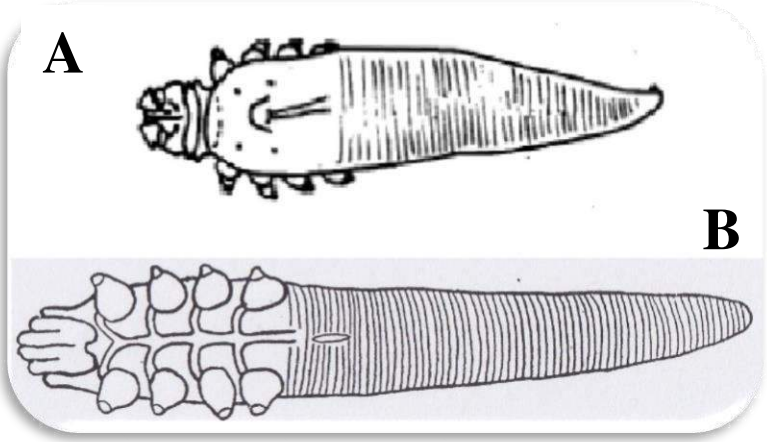


Fig. 5.19. Genero *Demodex* Vista Dorsal (A), Vista Ventral (B). Tomado de Benbrook y Sloss (1966) y Quiroz (1990)

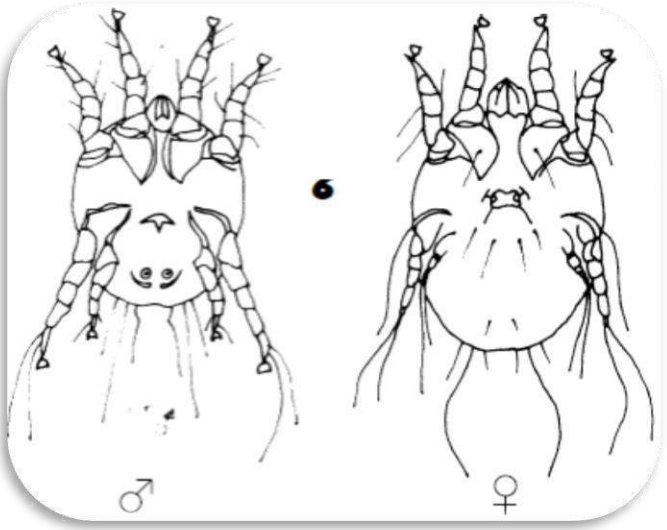


Fig. 5.21. *Otodectes cyanotis*. Hembra (Derecha), Macho (Izquierda). Tomado de Vignau *et al*. (2005)

CAPITULO VI.

EXAMEN COPROLOGICO

El diagnostico parasitológico veterinario no se basa exclusivamente en coprología, existen también métodos inmunológicos, xenodiagnósticos y otras técnicas consideradas de elección de acuerdo al parasito a diagnosticar (frotis sanguíneo para hematozoarios…etc.). La coprología es una herramienta útil principalmente para diagnosticar parásitos gastrointestinales, hepáticos y pulmonares; pero siempre considerando los hallazgos clínicos y las anamnesis de los pacientes a diagnosticar, por tanto esta siempre será un apoyo al diagnóstico clínico (Cardona 2005).

La coprología se encarga del estudio de la materia fecal, cuyo propósito es identificar si hay parásitos, bacterias, alimentos no digeridos, entre otros.

Un resultado negativo no descarta la posibilidad de parasitismo, ya que el propio método conlleva a falsos resultados negativos, por diversas causas. Entre las principales causas de Falsos Negativos están:

- ✓ Muestra recogidas y conservadas inadecuadamente.
- ✓ La sensibilidad de los métodos coprológicos es relativamente baja.
- ✓ Presencia de pocos parásitos en la muestra.
- ✓ Biología y ciclo de los parásitos.

6.1. GENERALIDADES

Existen numerosos tipos de parásitos que podemos dividir en Protozoos, Helmintos (Cestodos, Nematodos y Trematodos), Acantacephalos. El examen coprológico, es una herramienta muy importante para poder diagnosticar enfermedades parasitarias mediante la detección de parásitos. Por ello en el examen se pueden observar huevos, larvas y/o adultos de nematodos; proglótidos y huevos de cestodos; quistes, formas vegetativas y ooquistes de protozoarios; así como también sangre oculta en heces (Cardona 2005).

Si bien en un inicio pueden pasar desapercibidas, pueden ocasionar problemas digestivos (vómitos, diarrea, pérdida de peso, mala digestión de alimentos). Los parásitos intestinales también pueden afectar a las personas y constituyen por tanto un riesgo para la salud pública.

6.2. EXAMEN MACROSCÓPICO

El Examen Macroscópico proporciona información sobre el estado del tracto gastrointestinal del paciente y la naturaleza de su dieta. Se basa en la observación y en algunos casos con ayuda de instrumentos. Para determinar si hay o no alteraciones primero debe conocerse que es lo normal; de esa forma se describirán alteraciones que pueden observarse y se explicara su interpretación. Se considerara anormal todo aquel resultado que varié de los estándares.

6.2.1. Color

El color de las heces proporciona información sobre patología, disfunciones orgánicas, hemorragia, alimentación o ingestión de medicamentos. El color anormal ayuda al médico a seleccionar las pruebas tanto químicas como microbiológicas necesarias para llegar a un diagnóstico (Messeguer 1999).

Debe recordarse que el color varía en función de la especie, así como también del tipo de alimentación lo que origina grandes diferencias, así por ejemplo:

- Equinos: su color varía en función de la alimentación seca o verde.
- Bovinos: su color es verde oscuro.
- Caninos, Felinos: con dieta mixta las heces son de color pardo a marrón, más o menos oscuro, en el adulto; mientras que con dieta láctea y en los lactantes es canela o marrón claro.

Cuadro 6.1. Interpretación de Color de las Heces

Coloración	Interpretación
Arcilloso	Disfunción de la vesícula biliar
Color oscuro	Exceso de bilis o presencia de sangre
Oscuras, como posos de café	Enteritis y coccidiosis en bovinos
Marrón-negruzco	Retención fecal
Amarillo-verdoso	Ictericia
Blanquecinas	Diarreas de los lactantes
Claras y grasientas	Insuficiencias pancreáticas

Fuente: Coffin (1952) y Messeguer (1999)

6.2.2. Consistencia

La consistencia es un parámetro relacionado con la cantidad y con la frecuencia de la emisión. El procedimiento se basa en el reconocimiento de las heces, distinguiéndolas de la consistencia normal de las heces, así como su forma.

- Equinos: heces en forma de bolas, ligeramente alargadas por sus polos que, normalmente se suelen romper al caer al suelo.
- Bovinos: heces más o menos pastosas que forman una especie de ensaimada al caer al suelo; en los animales que pastan son prácticamente liquidas.
- Óvidos, Caprinos: son bolas ovoides o esféricas de pequeño tamaño.
- Caninos, Felinos: sólidas y uniformes.

Según Messeguer (1999) hay 2 alteraciones que revisten de importancia, como anormalidades de la consistencia:

A. Diarreas

La disminución de la consistencia hace que las heces sean más blandas, incluso liquidas; si a esto se les une un incremento de la frecuencia, nos encontramos ante lo que se llama “diarrea”. Intervienen tres factores al margen de la alimentación propiamente dicha, como son: Aumento de la actividad motriz del intestino, Menor absorción de agua de la luz intestinal, Aumento de las secreciones.

Las características de las heces diarreicas son distintas según se trate de un síndrome “coleriforme” o “disenteriforme”. Puede deberse a parásitos, bacterias, virus, cambio brusco del clima o la dieta (Coffin 1952).

En síndrome coleriforme, las heces son claras y fluidas, se observan retortijones y no suelen ser excesivamente malolientes; mientras que en el síndrome disenteriforme, las heces son pastosas, sin ir acompañadas de retortijones y son malolientes. La mayoría de las veces, la diarrea comienza de forma intrascendente y tiene un origen alimentario (con restos de alimento, espuma y olor acido), posteriormente, la acción bacteriana o vírica la transforma en diarrea de tipo infeccioso.

- Esteatorrea: Se manifiesta por heces de color claro, de consistencia semilíquidas, oleosas o espumosas; lo que sugiere una deficiencia de la porción acinosa del páncreas (Coffin 1952).

B. Constipaciones

El aumento de la consistencia es consecuencia de una constipación, acompañada de una disminución en la frecuencia de deposición. Debido a que se presenta una disminución del peristaltismo, lo que favorece una mayor absorción del agua intestinal y la desecación de las heces, que suelen estar recubiertas de moco. Causas del aumento de la consistencia: ayuno, obstrucciones intestinales parciales, falta de ejercicio, menor ingestión de agua o deshidratación y alteraciones hepáticas (Messeguer 1999).

6.2.3. Presencia de Sustancias Anómalas

Las heces pueden contener muchas sustancias extrañas tales como moco, trozos de mucosa, cuerpos extraños, etc. Pero lo más importante, desde el punto de vista del diagnóstico, son la sangre y los parásitos o sus huevos (Meseguer 1999).

- Presencia de Moco: indica inflamación catarral.
- Presencia de Residuos: claro signo de peristaltismo exagerado o disfunción digestiva cuando se observa presencia de restos de alimentos sin digerir u otro tipo de residuos.
- Presencia de Material Anormal: indicio de perversiones del apetito en animales adultos por lo general; y de travesuras en animales jóvenes.
- Presencia de Parásitos: Ascárides adultos, estrongilos, segmentos de tenias, entre otros; son vistos con frecuencia en las heces (Coffin 1952).
- Presencia de Sangre
  - ✓ Sangre Roja, fresca: hemorragia del recto o colon.
  - ✓ Sangre Ennegrecida, digerida: hemorragia a niveles altos del intestino o gástrica.

  - Hemorragia Alta:
    - De escasa cantidad, la sangre pasa desapercibida y hay que recurrir a pruebas químicas (Prueba de Bencidina).
    - Si la hemorragia es seria, la sangre se digiere y se mezcla con las heces en toda su masa, dando a estas un aspecto marrón oscuro.

  - Hemorragia del Tramo Medio:
    - Excrementos son marrones por fuera, mientras que en su interior el color es normal.

  - Hemorragia Caudal (colon):
    - Excrementos salen cubiertos de sangre roja; mientras que si es rectal, la sangre sale en forma de coágulos sin mezclarse con las heces.

6.3. PRUEBA DE SANGRE OCULTA EN HECES

6.3.1. Prueba de Bencidina

El fundamento de esta prueba se basa en que, la peroxidasa de la hemoglobina reduce al peróxido y libera oxigeno que es detectado por el indicador, la bencidina (Benjamín 1962).

- ♣ **Sol. de Bencidina**

  - Se diluye la punta de un cuchillo de Bencidina Base, en 2 ml de Ácido Acético Glacial.

❖ **Procedimiento**

1. Sobre un papel filtro manchado con heces, se derraman unas gotas de Solución de Bencidina.
2. Enseguida se añade 1 gota de Agua Oxigenada (Peróxido de Hidrogeno) a 10 volumen.
3. Si existe sangre, se formara un halo verde-azulado en el papel mojado, entorno a la mancha de heces.

6.4. EXAMEN CUALITATIVO

Se denominan así a aquellas técnicas que revelan solamente la presencia de elementos parasitarios, caracterizándose por la rapidez de su ejecución y su sensibilidad. Para facilitar el diagnóstico es necesario concentrar los huevos, quistes u ooquistes; por tanto se usan técnicas de Flotación, Sedimentación o de Filtración (Vignau *et al*. 2005).

Según Coffin (1952) y Benjamín (1962) algunos términos cualitativos que pueden orientar al clínico corresponden a Infecciones bajas, leves, moderadas y graves. Correspondiéndose con el sistema de cruces según el número de formas parasitarias así:

Cuadro 6.2. Términos Cualitativos para el Grado de Infección

Nivel de Infección	Resultado	Representación del Resultado
Nula	No se vio ningún huevo	Ninguno visto
Ocasional	Menos de 1 forma por campo, bajo pequeño aumento	Ocasional
Baja	1 a 3 formas por campo, bajo pequeño aumento	Una cruz (+)
Leve	4 a 7 formas por campo, bajo pequeño aumento	Dos cruces (++)
Moderada	8 a 10 formas por campo, bajo pequeño aumento	Tres cruces (+++)
Grave	Más de 10 formas por campo, bajo pequeño aumento	Cuatro cruces (++++)

Fuente: Benjamin (1962)

- Se recomienda hacer lectura de cinco campos escogidos al azar en la preparación o frotis.

6.4.1. Frotis Directo

Según Benjamín (1962) está indicado en los casos de:

- Protozoarios: Tricomonas, Giardia, Ameba, Balantidium, Coccidiosis (la técnica de flotación es preferible, salvo en infecciones graves).
- Espiroquetas: como *Spirillum eurygyata* (se mueve sobre su largo eje, bastante grueso y tiene 1 a 4 espirales flojamente enrolladas), *Borrelia canis* (se mueve, tanto sobre su largo eje, como ejecutando ondulaciones, largo, filiforme y posee varias espirales flojas); detectables con objetivo de gran aumento.
- Vestigios de sangre denominados "sangre oculta", que indican hemorragia en el tracto gastrointestinal.
- Materias alimenticias no digeridas.

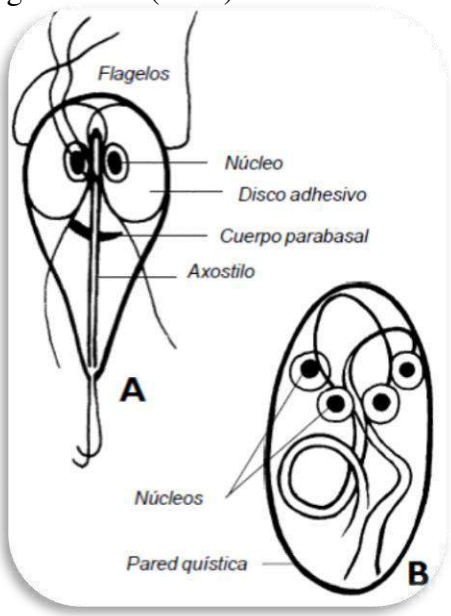


Fig. 6.1. *Giardia sp.* Trofozoito (A), Quiste (B). Tomado de Vignau *et al*. (2005)

❖ **Materiales**

- ✓ Muestra
- ✓ Microscopio
- ✓ Sol. Salina
- ✓ Lugol
- ✓ Asa bacteriológica
- ✓ Cubreobjetos
- ✓ Portaobjetos

♣ **Lugol 3%** según Coffin (1952)

- Yodo molecular (I_2): 5 g
- Yodo potásico (KI): 10 g
- Agua destilada: 85 ml

❖ **Procedimiento**

1. Se emulsifica una pequeña cantidad de heces, en un poco de agua o solución salina fisiológica, sobre un portaobjetos. Asegurarse que la capa sea lo suficientemente delgada para poder ser observada al microscopio.
   - ✓ Se pueden colocar 2 muestras del mismo espécimen, en el mismo portaobjetos; emulsificando uno con sol. salina fisiológica y el otro con Lugol 3% (Fig. 6.2.).
2. Se coloca el cubreobjetos y se examina, con el objetivo de menor aumento, para después ir dando más aumento; investigando esmeradamente la presencia de huevos, quistes y larvas.

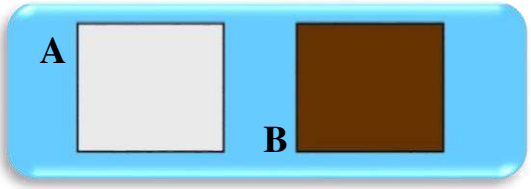


Fig. 6.2. Esquema de la Técnica del Frotis Directo, Usando Sol. Salina (A) y Lugol (B)

- Este método requiere de la transparencia en el campo de observación, por lo que se diluye en una gota de agua, solución salina o Lugol débil (ciertos huevos, como los de Giardia se visualizan mejor con esta solución) (Benjamin 1962).

6.4.2. Métodos de Concentración

Los Métodos de Concentración, son aquellos los cuales hacen uso de procedimientos y sustancias específicas, para mejorar las posibilidades de la identificación cualitativas de los parásitos, ya sea larvas, huevos u ooquistes. Entre los diferentes métodos de concentración están los de Flotación, Sedimentación; así como también combinaciones como son los de Sedimentación – Flotación.

6.4.2.1. Flotación

Se disuelve la materia fecal en soluciones de alta densidad, las que provocan la flotación de los huevos, quistes y ooquistes. Estas técnicas a continuación descritas son las más adecuadas para la búsqueda de huevos de nematodos, cestodos y ooquistes de coccidios (Vignau *et al.* 2005).

6.4.2.1.1. Técnica de Fulleborn

Es una solución saturada de cloruro de sodio (NaCl), con una densidad de 1:150. Dicha solución se prepara de la siguiente forma: 400 g de sal, en 1 lt de agua destilada entibiada.

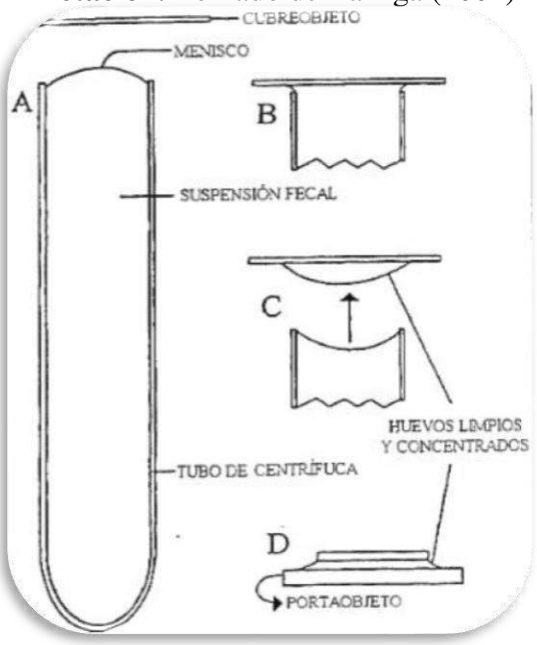
❖ **Materiales**

- ✓ Microscopio
- ✓ Pesa Digital
- ✓ Solución Saturada de NaCl
- ✓ Mortero
- ✓ Embudo
- ✓ Colador
- ✓ Tubos de 100 ml, de 3 a 4 cm de diámetro
- ✓ Ansa metálica
- ✓ Porta y cubreobjetos

❖ **Procedimiento**

1. Mezclar en un mortero 3-5 g de materia fecal con 50 ml de solución saturada de NaCl.
2. Filtrar la mezcla con un colador, recogiendo el líquido en el tubo a través del embudo.
3. Dejar reposar 20 minutos y tomar luego una gota de la superficie utilizando un ansa metálica.
4. Colocar la gota entre porta y cubreobjeto y observar al microscopio.

Fig. 6.3. Esquema del Método de Flotación. Tomado de Barriga (2002)



- Conviene revisar una gota del sedimento luego de 6 horas, algunos huevos de *Trichuris* y Acantocéfalos no alcanzan a flotar pero pueden sedimentar en ese lapso (Vignau, *et al*. 2005).

6.4.2.1.2. Técnica de Sheather

Es una solución saturada de azúcar, con una densidad de 1:300. Dicha solución se prepara de la siguiente forma: 550 g de azúcar refinada, en 1 lt de agua destilada entibiada, a esta solución se le agregar 10 ml de formol al 40%, para evitar la formación de hongos u otros microorganismos.

❖ **Materiales**

- ✓ Microscopio
- ✓ Centrífuga y tubos para centrifuga
- ✓ Pesa Digital
- ✓ Solución de Sheather
- ✓ Mortero
- ✓ Colador
- ✓ Embudo
- ✓ Ansa metálica
- ✓ Porta y cubreobjeto

❖ **Procedimiento**

1. Disolver en un mortero 3-5 g de materia fecal con 50 ml de solución de Sheather
2. Filtrar la mezcla con un colador recogiendo 10 ml a través de un embudo, en el tubo de centrífuga
3. Centrifugar 5 minutos a 2500 rpm
4. Tomar con un ansa una gota de la superficie, colocar entre porta y cubreobjeto.
5. Observar al microscopio

6.4.2.2. Sedimentación

Fig. 6.4. Esquema del Método de Sedimentación, luego de la Centrifugación. Tomado de Barriga (2002)

Se ocupa cuando se sospecha de la presencia de huevos de trematodos u otra clase de huevecillos operculados.

6.4.2.2.1. Técnica de Ritchie

Para búsqueda de huevos, quistes u ooquistes en materia fecal con alto contenido en grasa. Se utiliza la Sol. de Formol-Sal, que se prepara de la siguiente forma: 5 g de NaCl en 1 lt de agua destilada entibiada, a la cual se agrega 50 ml de Formol 40 %.

❖ **Materiales**

- ✓ Microscopio y Centrífuga
- ✓ Pesa Digital
- ✓ Solución de Formol-Sal
- ✓ Mortero
- ✓ Colador
- ✓ Tubos para centrifuga
- ✓ Porta y cubreobjetos
- ✓ Éter Sulfúrico
- ✓ Pipeta Pasteur

❖ **Procedimiento**

1. Disolver 3 g de materia fecal en solución de formol-sal y filtrar con el colador
2. Llenar las tres cuartas partes del tubo de centrífuga y agregar 2 cc de Éter Sulfúrico y agitar enérgicamente
3. Centrifugar a 1500 rpm durante 3 minutos
4. Eliminar el sobrenadante volcando con un movimiento rápido
5. Homogeneizar el sedimento y tomar una gota con Pipeta Pasteur para colocar entre porta y cubreobjeto
6. Observar al microscopio

6.4.2.2.2. Diagnóstico de Fasciola Hepática según Zarate (2007)

❖ **Material**

- ✓ Microscopio y Pesa Digital
- ✓ Matraz de 250ml.
- ✓ Colador
- ✓ Cajas de Petri

❖ **Procedimiento**

1. Se mezclan 5g de heces en 200 ml de agua
2. Se cuela la muestra y se descarta el material atrapado en el colador
3. Luego de 10 minutos se decanta aproximadamente el 70% del sobrenadante y se rellena con agua limpia
4. Se repite en tres ocasiones el paso anterior hasta que el sobrenadante sea claro
5. Se retira el 90% a 95% del sobrenadante y el sedimento se pasa a una placa Petri
6. Se observa al microscopio. Buscando grandes huevos operculados y de color amarillo

6.4.2.3. Sedimentación - Flotación

6.4.2.3.1. Técnica de Teuscher (Modificada)

Araya (1967) y Valenzuela *et al*. (1984) citan que la Técnica de Teuscher (1965) es una modificación de la técnica de Faust, *et al* (1938), y es una combinación de las técnicas de Sedimentación y Flotación. Es una técnica eficaz para la detección simultánea de huevos de Nematodos, Cestodos, Trematodos y ooquistes de Protozoos, evitando con ello la ejecución de otras técnicas especiales para determinadas formas parasitarias (Aguirre 2006).

❖ **Materiales**

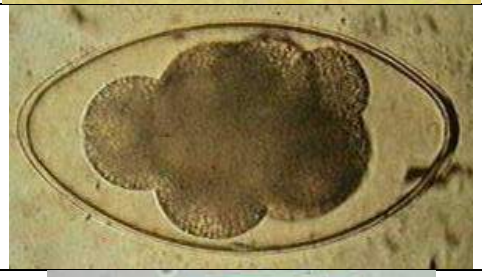
- ✓ Microscopio
- ✓ Centrífuga
- ✓ Pesa Digital
- ✓ Solución de Sheather
- ✓ Vaso de Decantación
- ✓ Tubos para Centrifuga de 12 y 50 ml
- ✓ Mortero y Pilón
- ✓ Tamiz o Colador
- ✓ Ansa metálica
- ✓ Gradilla
- ✓ Porta y cubreobjetos

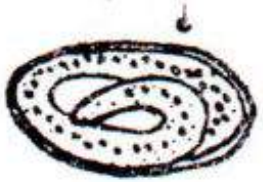
❖ P**rocedimiento**

1. Disolver 2-4 g de heces en 50 ml de agua
2. Filtrar en un vaso de decantación durante 30 minutos, luego decantar el sobrenadante y dejar un sedimento en 40 ml
3. Colectar el sedimento en un tubo de centrifuga de 50 ml, y centrifugar por 5 min a 2000 rpm
4. Descartar el sobrenadante y resuspender el sedimento en sol. de Sheather
5. Pasar a tubos de centrifuga de 12 ml, y centrifugar por 5 min a 2000 rpm
6. Completar con sol de Sheather, con cuidado hasta formar un menisco convexo en el borde superior, y cubrir con un cubreobjetos
7. Dejar en reposo 5 min, posteriormente sacar el cubre y colocar en el portaobjetos
8. Observar al microscopio

6.5. GALERÍA PARA IDENTIFICACIÓN DE HUEVOS DE PARÁSITOS

Cuadro 6.3. Principales Parásitos en Rumiantes

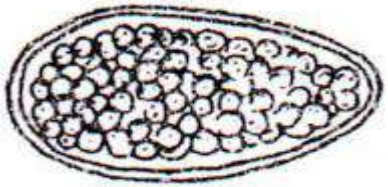
Parasito		Imagen	Tamaño	Morfología
Trichostrongilidos	*Haemonchus sp.* *Ostertagia sp.* *Trichostrongylus sp.* *Cooperia sp.*		• 95x50µ • 75x40µ	Oval, todos similares, dimensiones variables. Por la observación del huevo no es posible diferenciarlo, diagnostico "Trichostrongiloidiasis"
Nematodirus spp.			• 230x100µ • 150x80µ	Oval, es el mayor huevo de los nematodos, las células situadas en el centro semejan un racimo de uvas rodeado por un área clara
Estrongilidos	*Oesophagostomum spp.*		81x45µ	Oval, difícil de distinguir de los tricostrongilos menores, oscuro, capsula muy delgada, masa protoplásmica generalmente en etapa de división de 8-10 células
	Bunostomum spp. (anquilostoma)		95x50µ	Células muy oscuras, granulares, difícil de diferenciar de tricostrongilos y *Oesophagostomum*

Ascaris vitulorum		85x70µ	Oval, ancho, capa albuminosa finamente mamelonada sobre la capsula, masa protoplasmática oscura, semejante a *Toxocara canis*
Trichuris sp.		75x36µ	Presenta tapón doble, pequeño, pálido, similar al Tricocéfalo canino
Strongyloides papillosus		50x22µ	Pequeño, pálido, oval, capsula muy delgada, contiene 1 embrión móvil desarrollado
Fasciola hepática (Distoma hepatica)		140x70µ	Oval, capsula delgada, opérculo polar visible, masa protoplásmica granular

Paramphistomum cervi			145x86µ	Oval, desarrollado al estadio de la mórula, opérculo polar, proyección de la capsula en el extremo opuesto
Moniezia spp.			67x56µ	Triangular, membrana externa gruesa, aparato piriforme bien desarrollado
Coccidia	*Eimeria spp.*		• 30x15µ • 13x12µ	Subglobular, ovoide, ovalo alargado, todas cuentan con pared quística prominente, la masa protoplásmica es esférica y granular

Fuente: Coffin (1952)

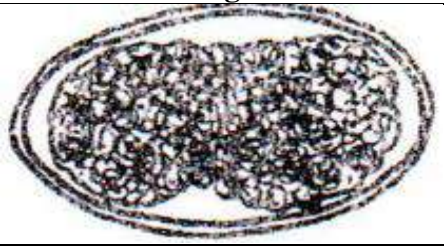
Cuadro 6.4. Principales Parásitos en Porcinos

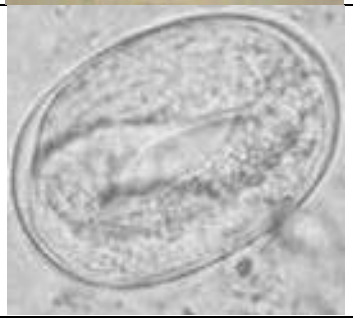
Parasito	Imagen	Tamaño	Morfología
Ascaris lumbricoides		63x45µ	Ovalado, capsula gruesa cubierta por una masa albuminosa dura sumamente áspera o mamelonada
Oesophagostomum spp.		70x42µ	Oval, capsula delgada, masa central pálida, en etapa de división celular de 8-12 elementos
Hyostrongylus rubidus		76x36µ	Oval, uno de sus extremos es más agudo que el otro, mórula (etapa embrionaria)
Macracanthorhynchus hirudinaceus		88x52µ	Oval, café oscuro, opaco, cuenta con 4 capsulas, masa protoplásmica no discernible

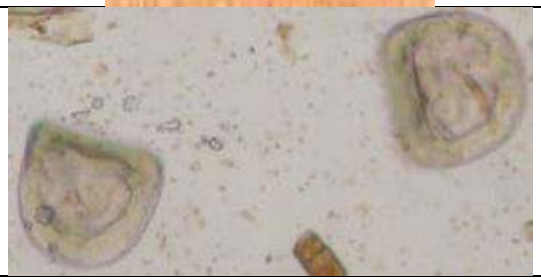
Thichuris suis			65x30µ	Alargado, forma de limón con 2 tapones polares pálidos	
Strongyloides spp.			55x32µ	Oval, pálido, pequeño, capsula muy delgada, embrión en estadio vermiforme	
Coccidia	*Isospora sp.*		• 50x35µ • 12x9µ	Oval o elongado	esporula con 2 esporocistos
	Eimeria sp.	Similar al de los Rumiantes			esporula con 4 esporocistos

Fuente: Coffin (1952)

Cuadro 6.5. Principales Parásitos en Equinos

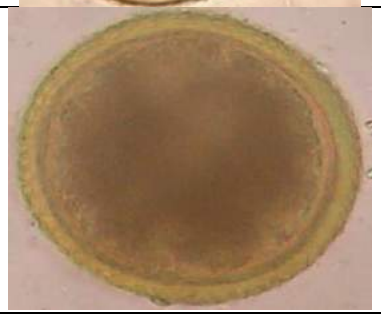
Parasito	Imagen	Tamaño	Morfología
Trichonema spp.		40-50µ	Parasitación mixta por varias especies difíciles de diferenciar por el aspecto del huevo

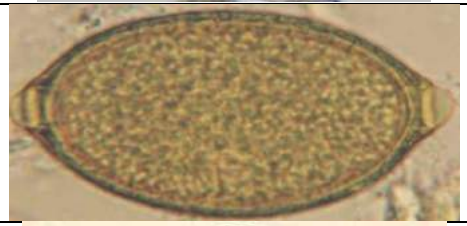
Strongylidae	*S. equinus* *S. edentatus* *S. vulgar*		70-100µ	Huevos ovalados de capsula delgada y tamaño mediano a grande, similares entre si por lo que se diagnostica como "estrongiloidiasis"
Parascaris equorum			100x90µ	Casi esféricos, de color café. Presentan una cubierta gruesa, mamelonada, albuminosa, sobre la capsula
Oxyuris equi			110x40µ	Oval, alargado, con tapón polar único, contiene un embrión parcialmente desarrollado
Strongyloides sp.			47x35µ	Huevo pequeño, oval, pálido, capsula muy delgada, con tiene un embrión móvil plenamente desarrollado

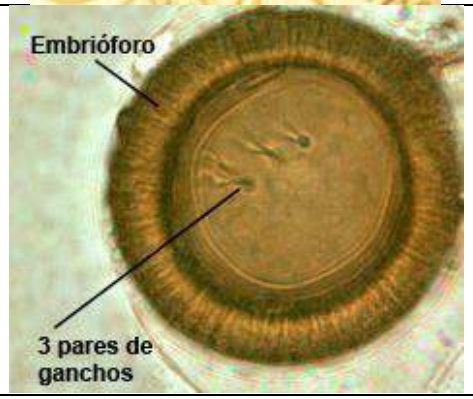
Habronema sp.		45x12µ	Alargado, generalmente curvo, embrionado
Anoplocephala spp (Tenia)		80x65µ	Esférico con un lado aplanado, capsula externa gruesa, contiene una estructura piriforme con 2 ganchos

Fuente: Coffin (1952)

Cuadro 6.6. Principales Parásitos en Caninos y Felinos

Parasito	Imagen	Tamaño	Morfología
Toxocara leonina		85x60µ	Ovalado, muy ancho, capsula gruesa, masa protoplásmica pálida, granular y retraída. Afecta a Caninos y Felinos
Toxocara canis		85x65µ	Esferoidal con masa protoplásmica homogénea, oscura, generalmente negra, capsula delgada, estriada con cubierta albuminosa mamelonada. Afecta a Caninos
Toxocara cati		Similar al *T. canis*. Afecta a Felinos	

Ancylostoma caninum			80x50µ	Oval, capsula delgada, masa protoplásmica granular, usualmente en etapa de división celular de 8-16 células. Afecta a Caninos y Felinos
Uncinaria stenocephala			65x40µ	Semiovalado, indistinguible del *A. caninum* por su forma. Afecta a Caninos y Felinos
Trichuris vulpis			80x39	Forma de limón con 2 tapones polares definidos, el color oscila entre el amarillo pálido al café. Afecta a Caninos
Trichuris serrata			Similar al *Trichuris vulpis*. Afecta a Felinos	
Dipylidium caninum			40x35µ	Ovalado, muy ancho, capsula gruesa, homogéneo, muchos huevos en cada capsula. Afecta a Caninos y Felinos
Capillaria aerophila			67x38µ	Oval, tapón doble, uno de estos es excéntrico más pequeño que el otro. Afecta a Caninos y Felinos
Coccidia	*Isospora felis, Isospora rivolta, Isospora bigenima*		45x30µ 22x18µ 10x8µ	Oval, pared quística definida, masa protoplásmica excéntrica, granular, esporula con 2 esporocistos. Afecta a Caninos y Felinos

	Eimeria canis		30x15µ	La mayor oval, micrópilo visible, esporula con 4 esporocistos. Afecta a Caninos y Felinos
	Eimeria sp.		23x15µ	
Taenia pisiformis			35x25µ	Oval, capsula amarilla estriada, huevo único por la capsula, los ganchos son visibles a gran aumento. Afecta a Caninos
Taenia taeniaeformis		Similar a la *T. pisiformes*. Afecta a Felinos		

Fuente: Coffin (1952)

6.6. EXAMEN CUANTITATIVO

Permiten determinar la cantidad de huevos u ooquistes que son eliminados en la materia fecal. La sensibilidad dependerá de la dilución de la materia fecal y del tamaño de las cámaras de conteo a utilizar. El resultado expresa el número de huevos por gramo de heces (HPG) (Zarate 2007).

6.6.1. Técnica de McMaster

La técnica de McMaster emplea cámaras de conteo que posibilitan el examen microscópico de un volumen conocido de suspensión de materia fecal. Para preparar la suspensión se emplea un peso de heces y un volumen de líquido de flotación conocidos, lo que permite calcular el número de huevos por gramo de heces (H.P.G). Cuando la cámara se llena con una suspensión de heces en fluido de flotación, la mayoría de los detritos se van al fondo mientras los huevos de parásitos flotan hacia la superficie, en donde son observados fácilmente y contados los que están dentro de la rejilla (Vignau *et al*. 2005).

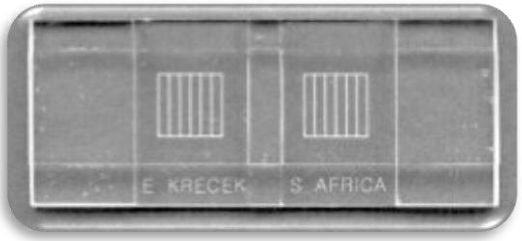


Fig. 6.5. Cámara de McMaster

La cámara de McMaster usada para Ovinos y Caprinos, consta de un portaobjetos superior que tiene grabado, dos cuadrados de 1 cm^2, con lo que se obtienen dos cámaras de 0.15 ml de capacidad (en conjunto es de 0.3 ml).

La cámara de McMaster Modificada (por Roberts y O'sullivan) usada para Bovinos y Equinos, consta de 4 celdas de 1x2 cm de lado y 2.5 mm de espesor; cada celda tiene 0.5 ml y el conjunto es de 2 ml. La cara inferior de la tapa que cubre la cámara está dividida en franjas.

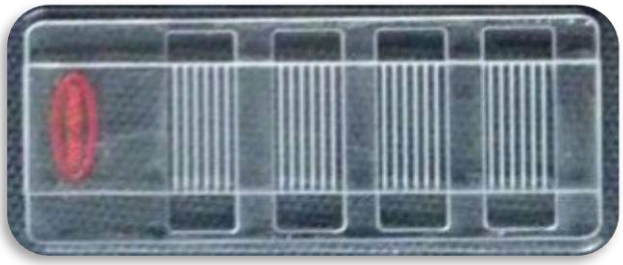


Fig. 6.6. Cámara de McMaster Modificada

❖ **Materiales**

- ✓ Microscopio y Pesa Digital
- ✓ Cámara de Mc Master Modificada o la Cámara de McMaster
- ✓ Solución para Flotación (Sol. saturada de NaCl o Sol. de Sheather)
- ✓ Pipeta de Pasteur plástica de 3 ml
- ✓ Mortero
- ✓ Espátula o baja lengua
- ✓ Probeta graduada
- ✓ Envase de Tapa Hermética
- ✓ Vasos plásticos
- ✓ Colador común

❖ **Procedimiento**

A. Procedimiento para Heces de Bovinos y Equinos

1. Colocar, en un envase de tapa hermética, 3 g de materia fecal y 60 ml de solución para flotación.
2. Agitar con una espátula o baja lenguas para disolver las heces hasta que ya no halla grumos.
3. Las heces mezcladas, se pasan a otro envase usando un colador.
4. Dejar reposar sólo unos segundos para que floten las burbujas mayores.
5. Tomar rápidamente una muestra con pipeta.

6. Cargar las cuatro celdas de la cámara.
7. Esperar 3 minutos para que los huevos asciendan hasta la tapa de la cámara, y queden todos en el mismo plano de foco.
   - ✓ Es importante dejar reposar la cámara para permitir que los huevos floten hacia la superficie y que los detritos se vayan al fondo de la cámara.

B. Procedimiento para Heces de Ovinos y Caprinos

El mismo procedimiento que en el de las Heces Bovinas y Equinas, con la excepción que se utiliza otra dilución: 1 g de heces en 50 ml de una solución para flotación (debido a que se halla una mayor cantidad de huevos en un menor volumen de heces) y se cargan las 2 celdas. Es mejor la utilización de un Mortero para disolver las heces en la solución para flotación.

❖ **Examen al Microscopio**

1. Examinar a objetivo 10x. No usar otros objetivos, debido a que el objetivo puede romper el plato superior de la cámara de McMaster.
2. Identificar y contar todos los huevos dentro del área grabada de ambas cámaras. Se cuentan la totalidad de los huevos que aparecen dentro de los límites de la cámara, siguiendo el trazado en "guarda griega" de la misma.

- No tardar más del tiempo recomendado para el conteo dado que la solución de flotación puede deformar o destruir huevos delicados. Por consiguiente, se recomienda procesar únicamente pocas muestras a la vez.

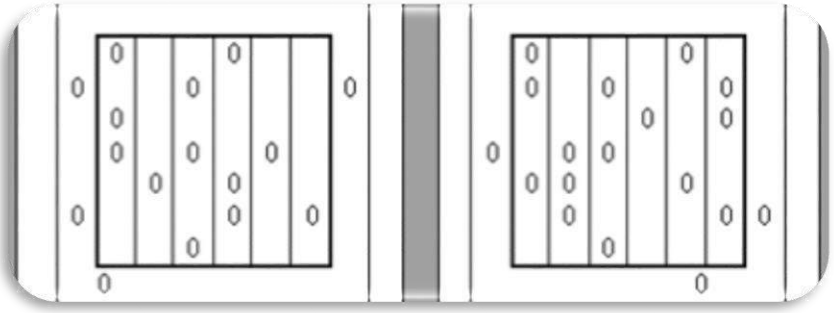


Fig. 6.7. Lectura de los Huevos en la Cámara de McMaster

❖ **Cálculo del Huevos Por Gramo (H.P.G.)**

La muestra de materia fecal se procesa diluyéndola en un fluido denso, que hace que los huevos se separen de los restos vegetales, floten y se adhieran al portaobjetos superior. Luego se examina la muestra, contando la cantidad de huevos dentro de los límites de marcados de las cámaras en observación, ignorando aquellos fuera de los cuadros. Finalmente se realizan los cálculos correspondientes de acuerdo a la especie y se expresan los resultados en cantidad de huevos por gramo de heces (HPG) (Vignau *et al*. 2005).

A. Bovinos y Equinos

- 3 g de heces en 60 ml de solución
- 2 ml de solución: 2x3/60 = 0,1 g de heces

El número de huevos contados en 2 ml corresponden a 0,1 g de heces, por lo tanto en un gramo habrá 10 veces más. El índice por el que se debe multiplicar el número de huevos totales es 10.

B. Ovinos y Caprinos

La muestra de un mismo animal para las dos celdas, se cuenta el total de huevos en ambas celdas y se los multiplica por 50; el resultado equivale a la cantidad de Huevos por Gramo.

- Se puede emplear una muestra de animales independientes para cada celda de la cámara, en este caso se multiplica el número de huevos encontrados por 100 lo que equivale al número de huevos por gramo de materia fecal (HPG).

❖ **Interpretación de Resultados**

Los resultados que aporten valores de ≥ 200 HPG se considera como infección positiva.

Cuadro 6.7. Grados de Infección Dependiendo del Parasito Infectante

Parasito	Grado de Infección (HPG)		
	Ligero	**Moderado**	**Grave**
Bovinos			
Infección mixta	50-200	200-800	800+
Infección por Haemonchus spp.	200	200-600	600+
Infección por *Trichostrongylus spp.*	50-100	100-400	400+
Infección por *Cooperia spp.*	200-300	300-2,500	2,500+
Ovinos y Caprinos			
Infección mixta	50-800	800-1,200	1,000+
Infección mixta con ausencia de *Haemonchus spp.*	300-800	800-1,000	1,000+
Infección por *Haemonchus spp.*	100-2,000	2,000-7,000	7,000+
Infección por *Trichostrongylus spp.*	100-500	500-2,000	2,000+
Infección por *Oesophagotonum spp.*	10-800	800-1,600	1,600+

Fuente: Zarate (2007)

APENDICE I.

VALORES DE REFERENCIA

A1.1. Valores De Referencia Hematológicos
A1.2. Valores De Referencia Urinarios
A1.3. Principales Dermatofitos Que Afectan A Las Especies Domesticas
A1.4. Principales Ácaros Que Afectan A Las Especies Domesticas
A1.5. Principales Hematozoarios Que Afectan A Las Especies Domesticas

Cuadro A1.1. VALORES DE REFERENCIA HEMATOLOGICOS

Determinación	Unidades	Caninos	Felinos	Equinos		Bovinos	Ovinos	Caprinos	Porcinos
				Criollo	Pura Sangre				
Hematocrito	%	37-55	24-45	24-44	32-55	24-48	24-50	24-48	32-50
Hemoglobina	g/dl	12-18	8-14	8-14	10-18	8-14	8-16	8-14	10-16
Recuento de Eritrocitario	$x10^6/\mu l$	5.5-8.5	5.5-10	5.5-9.5	7-13	5-10	8-16	12-20	5-8
Reticulocitos	%	0-1.5	0-1	0		0	0	0	0-12
Volumen Corpuscular Medio	Fl	60-77	39-55	34-58		40-60	28-40	16-25	52-62
Hemoglobina Corpuscular Media	Pg	19.5-24.5	13-17	13-19		11-17	8-12	5.2-8	17-24
Concentración Media de Hemoglobina Corpuscular	g/dl ó %	32-36	30-36	31-37		30-36	31-34	30-36	29-34
Recuento de Leucocitario	$x10^3/\mu l$	5-14.1	5.5-19.5	6-12	7-14	4-12	4-12	6-18	11-22
Neutrófilos Segmentados	%	60-77	35-75	35-75	30-65	15-45	10-50	30-48	28-47
Neutrófilos En Banda	%	0-3	0-3	0-2		0-2	0.2	0-2	0-4
Eosinofilos	%	0-10	2-12	2-12	5-11	2-20	1-10	3-8	0-11
Basófilos	%	0	0	0-3		0-2	0-3	0-2	0-2
Linfocitos	%	12-30	20-55	15-50	25-70	45-75	40-75	50-70	39-52
Monocitos	%	3-10	1-4	2-10	5-7	2-7	1-6	1-4	2-10
Recuento Plaquetario	$x10^3/\mu l$	211-621	300-700	110-250		100-800	250-750	300-600	200-500
Proteína Plasmática	g/dl	6-7.5	6-7.5	6-8.5		6-8	6-7.5	6-7.5	6-8

Fuente: Benjamin (1962), Messeguer *et al*. (1992) y Duncan y Prasse (2005)

Cuadro A1.2. VALORES DE REFERENCIA URINARIOS

Cuadro A1.2.1. Valores de Referencia en el Examen Físico de la Orina

Parámetros / Especie	Equinos	Rumiantes	Porcinos	Carnívoros
COLOR	Color semejante a lechada de azufre o cerveza	Amarillo puro o pajoso		Amarillo pajoso
OLOR	Olor aromático fuerte	Olor aromático menos fuerte	Olor fuerte y desagradable	Olor fuerte a caldo de carne
TRANSPARENCIA	Turbia y opaca	Transparente al ser emitida, se vuelve opaca con el tiempo	--	Clara y transparente
VISCOSIDAD	Espesa	Fluida		

Fuente: Messeguer *et al*. (1992)

Cuadro A1.2.2. Valores de Referencia en el Examen Químico de la Orina

Parámetros / Especie	Caninos	Felinos	Bovinos	Ovinos	Caprinos	Equinos	Porcinos
Densidad	1.018-1.045	1.020-1.040	1.005-1.040	1.020-1.040	1.015-1.045	1.020-1.050	1.010-1.030
pH	Acida (6-7)		Alcalina (7.4-8.4)	Alcalina		Alcalina (8)	Alcalina o acida
Proteína	Negativo						
Glucosa	Negativo						
Cuerpos Cetonicos	Negativo						
Bilirrubina	Negativo						
Urobilinogeno	0.2-1.6 mg/dl	0.2-1.6 mg/dl	0.5 – 2 mg/dl	0.5 – 2 mg/dl	0.5 – 2 mg/dl	0.5 – 2.2 mg/dl	0.9 – 3.1 mg/dl
Nitritos	Negativo						
Sangre	Negativo						
Leucocitos	Negativo						

Fuente: Messeguer *et al*. (1992)

Cuadro A1.2.3.1. Valores de Referencia en el Examen Microscópico del Sedimento Urinario -- Estructuras Organizadas

ESTRUC. ORGANIZADAS	PARÁMETRO NORMAL	ESTRUC. ORGANIZADAS	PARÁMETRO NORMAL
Cel. de Descamación	Pocos (0-3 por campo)	**CILINDROS**	
Cel. de Epitelio Columnar	Negativo	**Hialino**	Pocos (0-2 por campo)
Cel. de Epitelio de Transición	Negativo	**Granulo-Hialino**	Pocos (0-2 por campo)
Cel. de epitelio Escamoso	Pocos (0-3 por campo)	**Granulo-Lipídico**	Aparecen con frecuencia en Felinos, Pocos
Hematíes	0-5 por campo	**Granulomatoso**	Pocos (0-1 por campo)
Leucocitos	0-7 por campo	**Epiteliales**	Negativo
Espermatozoides	• Sin Significancia Patológica • Después de Copula	**Céreos**	Negativo
Bacterias	Pocas	**Hemáticos**	Negativo
Hongos, Protozoos y Parásitos	Negativo	**Leucocitarios**	Negativo
Restos Fecales	Negativo	**Bacterianos**	Negativo
		CILINDROIDES	Escasa Significancia Patológica

Fuente: Benjamin (1962), Messeguer *et al.* (1992) y Chew y DiBartola (1998)

Cuadro A1.2.3.2. Valores de Referencia en el Examen Microscópico del Sedimento Urinario -- Estructuras No Organizadas

ESTRUC. NO ORGANIZADAS	PARÁMETRO NORMAL
Gránulos O Filamentos Orgánicos	
Gránulos Amiláceos	Sin Significancia Patológica
Mucina	Pocas
Gránulos de Almidón	Negativo
GRÁNULOS DE GRASA	
Gotas de Grasa	• Aparecen con frecuencia en Felinos • Sin Significancia Patológica
Corpúsculos Lipídicos	Negativo
Esteres Ácidos Grasos	Negativo

Fuente: Messeguer *et al*. (1992)

Cuadro A1.2.3.2.1. Elementos Mineraloides

ESTRUCTURAS NO ORGANIZADAS					
ACIDO (pH Inferior a 7)	**PARÁMETRO NORMAL**	**ANFOTEROS (pH entre 6-6.5 o 7.5-8)**	**PARÁMETRO NORMAL**	**ALCALINO (pH Superior a 7)**	**PARÁMETRO NORMAL**
Oxalato Cálcicos mono y Dihidratados	Pocos	**Cistina**	Negativo	**Fosfocarbonatos**	Abundantes en algunas orinas (Sin Significancia Patológica)
Ácido Úrico	Solo en Dálmatas	**Colesterina**	Negativo	**Fosfato Cálcico**	Negativo
Uratos Amorfos	Abundantes en algunas orinas (Sin Significancia Patológica)	**Creatinina**	Negativo	**Fosfato Amónico–Magnésico**	Negativo
Sulfamidas	Negativo			**Carbonato Cálcico**	Normal en herbívoros ✓ Rumiantes solo en las formas Hexagonal y Ortorrómbica
Tirosina	Negativo			**Urato Amónico**	Negativo
Leucina	Negativo				
Acido Hipúrico	Pocos				
Cristales de Bilirrubina	Negativo				

Fuente: Benjamin (1962), Messeguer *et al*. (1992)

Cuadro A1.3. PRINCIPALES DERMATOFITOS QUE AFECTAN A LAS ESPECIES DOMESTICAS

ESPECIE	Principalmente	Ocasionalmente	Rara veces
Rumiantes	*T. verrucosum*	*T. mentagrophytes var. granulare*	*T. rubrum, T. violaceum*
Equinos	*T. Equinum*	*T. mentagrophytes var. granulare, M. gypseum, M. canis*	*T. verrucosum, T. ajelloi*
Porcinos	*M. nanum*	--	*T. mentagrophytes var. granulare*
Caninos	*M. canis, T. mentagrophytes var. Granulare*	*M. gypseum*	*M. distortum, M. vanbreusegheimii, M. audouinii, T. verrucosum, T. equinum, T. schoenleinii, T. rubrum*
Felinos	*M. canis*	*T. mentagrophytes, M. gypseum*	*T. schoenleinii*

Fuente: Medway *et al*. (1973)

Cuadro A1.4. PRINCIPALES ACAROS QUE AFECTAN A LAS ESPECIES DOMESTICAS

ESPECIE	ÁCAROS
Bovinos	*Psoroptes communis bovis*, *Sarcoptes scabei var. bovis*, *Chorioptes bovis* y *Demodex bovis*.
Ovinos	*Psoroptes communis ovis*, *Chorioptes ovis* y *Sarcoptes scabei var. ovis.*
Equinos	*Chorioptes equi*, *Sarcoptes scabei var. equi* y *Psoroptes communis ovis*.
Porcinos	*Sarcoptes scabei var. suis* y *Demodex phylloides*,
Caninos	*Demodex canis* y *Sarcoptes scabei var. canis* principalmente; *Cheyletiella sp.* y *Otodectes cyanotis* ocasionalmente.
Felinos	*Notoedres cati*, *Otodectes cyanotis*, *Cheyletiella sp*. y *Demodex cati*.

Fuente: Medway *et al*. (1973)

Cuadro A1.5. PRINCIPALES HEMATOZOARIOS QUE AFECTAN A LAS ESPECIES DOMESTICAS

Especie/Lugar	Eritrocitos	Leucocitos	Plaquetas
Canino	*Babesia canis, Babesia gibsoni*	*Ehrlichia canis* (Monocitos, Granulocitos)	*Anaplasma platys*
		Hepatozoon canis (Neutrofilos, Monocitos)	
	Mycoplasma haemocanis	*Anaplasma phagocytophilum* (Neutrofilos, Granulocitos)	
Felino	*Babesia felis*	*Ehrlichia canis* (Monocitos, Granulocitos)	--
	Mycoplasma Haemofelis	*Hepatozoon canis* (Neutrofilos, Monocitos)	
Equino	*Babesia caballi, Babesia equi*	*Anaplasma phagocytophilum* (Neutrofilos, Granulocitos)	--
Bovino	*Babesia bigemina, Babesia bovis*	*Anaplasma phagocytophilum* (Neutrofilos, Granulocitos)	--
	Anaplasma marginale, Anaplasma centrale		
Ovinos & Caprinos	*Babesia ovis, Babesia motasi*	--	--
	Anaplasma ovis		

Fuente: Benjamin (1962), Medway *et al*. (1973) y Reagan (1999)

GLOSARIO

A

- Acantocitos: eritrocito con protuberancias irregulares multiples de varios tamaños en la membrana.
- Aglutinación: agregación de eritrocitos debido normalmente a la interconexión de anticuerpos asociados, en la superficie de los eritrocitos.
- Agranulocitos: leucocito que no contiene gránulos secundarios. Los tipos de agranulocitos son Linfocitos y Monocitos.
- Agua Destilada: aquella a la que se le han eliminado los iones e impurezas mediante destilación.
- Agua Tamponada o Amortiguada: es una mezcla de un producto químico (ácido o alcalino) con su correspondiente sal, disuelto en agua. Si el producto químico es un ácido, la sal será su base conjugada; si el producto químico es una base (o alcalino), la sal será su ácido conjugado.
- Amiloidosis: es una enfermedad que ocurre cuando las sustancias llamadas proteínas amiloides se acumulan en sus órganos.
- Anemia: condición en la que la concentración de hemoglobina, el valor hematocrito y la cantidad de eritrocitos se encuentran por debajo del rango de referencia.
- Anemia Hemolítica: es un grupo de trastornos hemolíticos (ya sea intravascular o extravascular), que causan la disminución de la masa de glóbulos rojos. A diferencia de anemias no hemolíticas (por déficit de hierro).
- Anemia No Regenerativa: anemia en la que no existe una producción adecuada de eritrocitos en la medula ósea.
- Anemia Regenerativa: anemia en la que existe un aumento en la producción de los eritrocitos en la medula ósea, con la subsiguiente liberación a la circulación periférica.
- Anemia Perniciosa: Es una disminución en los glóbulos rojos que ocurre cuando los intestinos no pueden absorber apropiadamente la vitamina B12.
- Anfóteros: aquella que puede reaccionar ya sea como un ácido o como una base.
- Anisocromia: falta de uniformidad en la coloración entre unos hematíes y otros.
- Anisocitosis: variación del tamaño de las células; se utiliza para describir variaciones en el tamaño de los eritrocitos.
- Artrosporas o Artroconidios: células con paredes gruesas formadas por hongos. Fragmentos de una hifa fragmentada.
- Azurofilos: gránulos del citoplasma que se tiñen de color rosa o rojo-purpura con Tinción de Romanowsky.

B

- Basofilia: reacción de una célula a la Tinción de Romanowsky, que se tiñe de azul el citoplasma, describe también el color del citoplasma de los neutrófilos tóxicos. Se refiere al aumento del número de basófilos en la circulación.

- Basofilico: color azulado en las preparaciones con Tinción de Romanowsky.

- Basopenia: disminución del número de basófilos en la circulación.

- Bilirrubinemia: presencia de bilirrubina en el plasma.

- Biopsia: procedimiento diagnóstico que consiste en la extracción de una muestra total o parcial de tejido para ser examinada al microscopio.

C

- Cariorrexis: Estallido del núcleo de la célula en restos basófilos; fase de muerte del núcleo que sucede a la picnosis.

- Cateterización o Sondaje Uretral: es la introducción de una sonda, a través de la uretra al interior de la vejiga urinaria con fines diagnósticos y terapéuticos.

- Célula Picnótica: célula con un núcleo pequeño y cromatina muy condensada.

- Cestodos: gusanos planos.

- Cheyletiellosis: infección por *Cheyletiella spp.*

- Cilindroides: son estructuras similares a los cilindros, pero que uno de sus extremos remata en punta.

- Cilindros Urinarios: masa cilíndrica de material formado en la porción distal de la nefrona y que pasa a la orina. Aglomerados de proteínas de estructura tubular, pueden ser celulares, granulares, serosos, o hialinos.

- Cistitis: inflamación de la vejiga urinaria.

- Cistocentesis: colección de orina por punción percutánea de la vejiga.

- Citoplasma: zona de la célula con exclusión del núcleo.

- Citrato Sódico: es un compuesto químico que, por lo general, se refiere al ion del citrato unido a tres átomos de sodio: el citrato trisódico. Se usa como anticoagulante para los estudios de coagulacion.

- Coagulación o Hemostasia: Proceso de formación de la sangre en una masa gelatinosa.

- Condrodisplasia: Irregularidad y retardo en el desarrollo del cartílago o en su crecimiento. Provoca enanismo e incurvación de los miembros inferiores.

- Coprología: Estudio de las materias fecales.

- Coproparasitologia: es la ciencia que estudia los parásitos y microorganismos que están de más o interfieren con el buen funcionamiento del organismo, y que de alguna manera se dan a conocer por la materia fecal.

- Cristales Urinarios: Formas geométricas de diferentes sustancias químicas que se cristalizan en la orina dependiendo del pH de esta.

- Cromatina Nuclear: complejo de ADN y proteínas nucleares. Porción del núcleo celular que se tiñe con mayor facilidad.

- Cuerpos de Döhle: estructura pequeña, redonda o irregular, azul, en el citoplasma de las células de la serie de los neutrófilos. Es una agregación anormal de ARN en la célula y un signo de toxicidad.

- Cuerpos de Heinz: protuberancia redondeada, a menudo refráctil, de la superficie del eritrocito debido a la oxidación y desnaturalización de la hemoglobina.

- Cuerpos de Howell-Jolly: pequeño fragmento de material nuclear residual del eritrocito.

- Curva de Arneth: índice de clasificación de, o formula de: clasificación de los neutrófilos de acuerdo con el número de lóbulos de su núcleo.

D

- Dermatofitos: son hongos hialinos que parasitan el tejido queratinizado.

- Dermatofitosis: infección por dermatofitos.

- Desviación a la Derecha: aumento del número de formas maduras de la serie granulocitica (neutrófilos) en la sangre.

- Desviación a la Izquierda: incremento en el número de formas inmaduras de la serie granulocitica (neutrófilos) en la sangre.

- Diabetes: es una enfermedad crónica, en la cual hay niveles altos de azúcar en la sangre.

- Diseritropoyesis: mielodisplasia de células de la serie de los eritrocitos.

E

- EDTA (Ácido Etilen Diamino Tetracético): sales de sodio o potasio del ácido etilendiaminotetraacetico, son poderosos anticoagulantes y suelen elegirse para el trabajo hematológico normal.

- Endotoxemia: presencia de endotoxinas en el torrente sanguíneo.

- Enfermedad Mieloproliferativa: proliferación neoplásica clónica de células de la serie mieloide.

- Eosinofilia: aumento del número de eosinofilos.

- Eosinofilico: se refiere a la coloración rosada de ciertos tejidos biológicos, células, u orgánulos.

- Eosinopenia: disminución del número de eosinofilos.

- Epistaxis: toda hemorragia con origen en las fosas nasales.

- Equimosis: lesión subcutánea de un área grande, caracterizada por depósitos de sangre extravasada debajo de la piel intacta.

- Equinocitos: eritrocito con pequeñas y multiples púas delicadas, de forma regular, distribuidas de manera uniforme de alrededor de la membrana.

- Eritrocitos Crenados: artefacto *in vitro* que origina la formación de eritrocitos con multitud de pequeños puntos finos de forma regular en la membrana de la célula.

- Eritrocitosis: aumento del número de eritrocitos.

- Eritropoyesis: producción de eritrocitos.

- Esporas: designa una célula reproductora generalmente haploide. También puede referirse a la etapa inactiva de algunas bacterias, lo que se denomina más correctamente endosporas. La mayoría

de los hongos producen esporas; aquellos que no lo hacen se denominan hongos asporógenos.

- Esporozoitos: es una etapa del ciclo de vida de un parásito protozoario durante la cual puede infectar a nuevos huéspedes.

- Estasis: estancamiento o aglomeración de sangre u otro líquido en alguna parte del cuerpo.

F

- Fagocitosis: es un tipo de endocitosis por el cual algunas células (fagocitos y protistas) rodean con su membrana citoplasmática partículas sólidas y las introducen al interior celular.

- Flagelo: es un apéndice movible con forma de látigo presente en muchos organismos unicelulares y en algunas células de organismos pluricelulares.

- Fusiforme: objetos u organismos en forma de huso, es decir, con forma alargada, elipsoide, y con las extremidades más estrechas que el centro.

G

- Gamontes o Gametocito: es también una de las etapas del ciclo de vida de un parásito protozoario, involucrada en la reproducción sexual.

- Glomerulonefritis: Es un tipo de enfermedad renal en la cual la parte de los riñones que ayuda a filtrar los desechos y líquidos de la sangre se daña.

- Glucemia: es la medida de concentración de glucosa libre en la sangre, suero o plasma sanguíneo.

- Glucosuria: presencia de glucosa en la orina a niveles elevados.

- Gnatosoma: es la región anterior del cuerpo de los ácaros, donde se encuentra el aparato bucal y sus apéndices.

- Granulocitos: leucocitos que contienen gránulos citoplasmáticos secundarios. Los tipos de granulocitos son los neutrófilos, eosinofilos y basófilos.

- Granulopoyesis: producción de granulocitos que incluye células de las series de neutrófilos, basófilos y eosinofilos.

H

- Hemangioma Esplénico: es el tumor benigno más frecuente en el bazo, se considera un trastorno congénito de crecimiento lento. Pueden aparecer como lesiones únicas o múltiples, por lo que el tamaño del bazo puede o no aumentar de forma significativa.

- Hematocrito: porcentaje de eritrocitos en relación al plasma.

- Hematología: se ocupa del estudio, diagnóstico y tratamiento de las patologías que afectan a la sangre.

- Hematoma: es la acumulación de sangre, causado por una hemorragia interna (rotura de vasos capilares, sin que la sangre llegue a la superficie corporal) que aparece generalmente como respuesta corporal resultante de un golpe, una contusión o una magulladura.

- Hematopoyesis: producción de células sanguíneas.

- Hematozoarios: son microorganismos que tienen como su hábitat el torrente

sanguíneo y se desarrollan dentro o fuera de las células sanguíneas, causando generalmente su destrucción.

- Hematuria: presencia de sangre en la orina.

- Hemoglobina: proteína de los eritrocitos que transporta oxígeno.

- Hemoglobinemia: es cuando se da un exceso de hemoglobina en el plasma sanguíneo.

- Hemoglobinuria: es cuando el nivel de hemoglobina en sangre se eleva demasiado, entonces dicha hemoglobina comienza a aparecer en la orina.

- Hemolisis: proceso de destrucción de glóbulos rojos.

- Hemolisis Extravascular: los eritrocitos son secuestrados en el hígado o bazo, donde son fagocitados o lisados procediéndose, en el lugar donde se destruyen, a la catabolización de la hemoglobina.

- Hemolisis Intravascular: los eritrocitos son destruidos en el torrente sanguíneo, liberando hemoglobina al plasma, la cual será eliminada por el hígado o excretada por los riñones.

- Hemorragias: es la salida de la sangre, provocada por la ruptura de vasos sanguíneos como venas, arterias y capilares.

- Heparina: es un anticoagulante, que actúa como cofactor de la antitrombina III, que es el inhibidor natural de la trombina

- Hifas: son elementos filamentosos cilíndricos característicos de la mayoría de los hongos que conforman su estructura vegetativa.

- Hipercolesterolemia: es la presencia de niveles elevados de colesterol en la sangre.

- Hipocromía: presencia de eritrocitos en la circulación que ha aumentado la palidez central, y disminuido la intensidad de coloración de la membrana debido a un reducido contenido de hemoglobina.

- Homeostasis: es una propiedad de los organismos vivos que consiste en su capacidad de mantener una condición interna estable compensando los cambios en su entorno mediante el intercambio regulado de materia y energía con el exterior (metabolismo).

- Opérculo: cubierta o tapa de los huevos de algunos platelmintos.

I

- Ictericia: es la coloración amarillenta de la piel y/o mucosas, debido al aumento de bilirrubina que se acumula en los tejidos, sobre todo aquellos con mayor número de fibras elásticas (ej. paladar, conjuntiva)

- Idiosoma: es la región posterior del cuerpo de los ácaros, donde se encuentran los 4 pares de patas; y contiene el canal alimentario, órganos reproductivos y sistema nervioso.

- Índices Eritrocitarios: Son una serie de parámetros que expresan diferentes características de los hematíes; como son el tamaño, color y concentración de hemoglobina, de los mismos.

L

- Leucemia: proliferación neoplásica de células originarias de la medula osea que, por lo general, se liberan a la sangre.
- Leucocitosis: aumento del número total de leucocitos.
- Leucograma: conteo de los diferentes tipos de leucocitos, como son neutrófilos, eosinofilos, basófilos, monocitos y linfocitos.
- Leucopenia: disminución del número total de leucocitos.
- Leucopoyesis: producción de glóbulos blancos
- Linfocitosis: aumento en el número de linfocitos.
- Linfopenia: disminución del número de linfocitos.
- Linfopoyesis: producción de linfocitos.
- Lipemia: es una turbidez del suero o plasma causada por elevadas concentraciones de lipoproteínas y la cual es visible a simple vista.
- Lipurias: presencia en la orina de una cantidad más o menos considerable de grasa; ésta puede estar emulsionada y dar a la orina un aspecto turbio, o la grasa puede no estar mezclada con la orina y formar una capa en la superficie.
- Lisis: es el proceso de ruptura de la membrana celular que produce la salida del material intracelular.
- Lupus Eritematoso: Es un trastorno autoinmunitario (el sistema inmunitario ataca por error al tejido sano) crónico que puede afectar la piel, las articulaciones, los riñones, el cerebro y otros órganos.

M

- Macrocitosis: presencia de eritrocitos más grande de lo normal.
- Macroconidias: Conidia multicelular, septada y de mayor tamaño que la microconidia.
- Mastocitoma: es un tumor primario de la piel; localizado especialmente en la cara, cuello, tórax y menos común en la cavidad oral.
- Megacariopoyesis: producción de trombocitos (plaquetas).
- Melanoma: es el nombre genérico de los tumores melánicos o una grave variedad de cáncer de piel.
- Microcitosis: presencia de eritrocitos más pequeños de lo normal.
- Microconidias: Conidia unicelular, de tamaño pequeño, presente en hongos capaces de formar macroconidias.
- Mieloptisis: es la infiltración de la medula ósea por células no hematopoyéticas.
- Mielosis: afección degenerativa de la medula ósea.
- Mioglobinuria: expulsión de mioglobina a través de la orina.
- Monocitopoyesis: producción de monocitos.
- Monocitopenia: disminución del número de monocitos.

- Monocitosis: aumento del número de monocitos.

- Mórula: es una masa de células, con una forma característica como un grupo de moras.

N

- Nefritis: inflamación del riñón.

- Nefroesclerosis: se refiere al endurecimiento renal y es el resultado final de la sustitución del tejido renal normal por uno más denso con abundante componente colágeno.

- Nefrosis: es un conjunto de manifestaciones clínicas que aparecen con aumento de proteínas en orina, disminución de proteínas en sangre, colesterol aumentado y edema o hinchazón secundario a esta falta de proteínas en la sangre.

- Nematodos: gusanos redondos.

- Neoplasia: es un término empleado, para designar una masa anormal de tejido, provocada porque las células que lo constituyen se multiplican a un ritmo superior al normal.

- Neutrofilia: aumento del número de neutrófilos.

- Neutropenia: disminución del número de neutrófilos.

- Núcleo: estructura esférica central dentro de una célula que contienen ADN, nucléolos y proteínas nucleares.

- Nucléolo: estructura pequeña, redonda, en los núcleos de las células que contiene ARN y proteína, se tiñe de azul con la Tinción de Romanowsky.

O

- Oliguria: es una disminución de la producción de orina.

- Ooquistes: forma quística que contiene el cigoto resultante de la esporogonia en los *Apicomplexa.*

P

- Pancitopenia: es una condición en la que hay una reducción en el número de glóbulos rojos, glóbulos blancos, así como, de plaquetas en la sangre.

- Paresia: es la ausencia parcial de movimiento voluntario, la parálisis parcial o suave, descrita generalmente como debilidad del músculo.

- Petequias: son lesiones pequeñas de color rojo, formadas por extravasación de un número pequeño de eritrocitos cuando se daña un capilar.

- Pielitis: inflamación aguda o crónica de la mucosa de la pelvis renal.

- Pielonefritis: es una enfermedad de las vías urinarias que ha alcanzado la pelvis renal. Normalmente, los microorganismos ascienden desde la vejiga hasta el parénquima renal.

- Piuria: pus en la orina.

- Plasma: es la fracción líquida y acelular de la sangre, es decir, se obtiene al dejar a la sangre desprovista de células como los glóbulos rojos y los glóbulos blancos.

- Poiquilocitosis: presencia de eritrocitos de forma anormal.

- Policitemia: condición en la que hay un aumento en el número de eritrocitos, leucocitos y plaquetas en sangre.

- Poliuria: emisión de un volumen de orina superior al esperado.

- Preeclampsia: es una complicación de la gestación, se asocia a hipertensión durante la gestación y a elevados niveles de proteína en la orina (proteinuria).

- Proteinuria: presencia de proteína en la orina.

- Punteado Basófilo: presencia de cuerpos muy pequeños que se tiñen de azul oscuro en el eritrocito. El punteado se debe por acumulación de ARN pero puede ir ligado a la acumulación de hierro.

Q

- Queratinocitos: son las células predominantes en la epidermis.

- Queratitis: es la inflamación de la córnea.

- Quiluria: síndrome clínico definido como la presencia de quilo en la orina, debido al paso de líquido linfático a las vías urinarias.

- Quistes: es una bolsa cerrada con una membrana propia que se desarrolla anormalmente en una cavidad o estructura del cuerpo.

R

- Reacción Colorimétrica: es aquella en que el producto de la reacción es una molécula que, al modificar su estructura química durante la reacción, genera una molécula que presenta un color. Se habla de reacción colorimétrica cuando se mide la intensidad de la coloración en una reacción y se compara con un estándar o con una curva de calibración.

- Reticulocito: eritrocito inmaduro que contiene agregaciones de ARN ribosomal y mitocondrias.

- Reticulocitos Agregata: poseen unos puntos de retículo aislados, que no se unen entre sí.

- Reticulocitos Punctata: poseen retículo abundante.

- Rouleaux o Pilas de Monedas: filas lineales organizadas y a veces cadenas ramificadas de eritrocitos.

S

- Saponina: son glucósidos de esteroides o de triterpenoides, llamadas así por sus propiedades semejantes a las del jabón. Las saponinas rompen las membranas de las células tras ser absorbidas hacia la corriente sanguínea.

- Sarna Corioptica: infección por *Chorioptes spp.*

- Sarna Demodectica o Demodicosis: infección por *Demodex spp.*

- Sarna Otodectica: infección por *Otodectes cyanotis.*

- Sarna Psoroptica: infección por *Psoroptes spp.*

- Sarna Sarcoptica o Escabiosis: infección por *Sarcoptes spp.*

- Septicemia: es una infección grave y potencialmente mortal que empeora en forma muy rápida y que puede surgir de infecciones en todo el cuerpo.

- Suero: es el componente de la sangre resultante tras permitir la coagulación de ésta y eliminar el coagulo resultante.

T

- Tinción de Romanowsky: es una técnica de tinción prototípica que fue predecesora de varios métodos distintos, pero basados en principios similares; como son las tinciones de Giemsa, Wright, Leishman, entre otras, las cuales son utilizadas para diferenciar diferentes tipos de células en especímenes patológicos.

- Toxemia: es un trastorno del organismo causado por la presencia de toxinas en la sangre.

- Transmitancia Óptica: que se define como la fracción de luz incidente, a una longitud de onda especificada, que pasa a través de una muestra.

- Trematodo: son una clase del *filo* de gusanos platelmintos. Son conocidos comúnmente por duelas.

- Tricograma: es un estudio o análisis capilar del pelo del paciente.

- Trofozoito: es la forma vegetativa activada que se alimenta y reproduce, en el ciclo de vida de los microorganismos protozoarios.

- Trombocitopatía o Tromboastenia: cualquier alteración o trastorno en el mecanismo de coagulación de la sangre, causado por una disfunción o anomalía en las plaquetas.

- Trombocitopenia: disminución en el número de plaquetas.

- Trombocitosis: aumento en el número de plaquetas

- Trombosis: es un coágulo en el interior de un vaso sanguíneo; también se denomina así al proceso patológico, en el cual, un agregado de plaquetas o fibrina ocluye un vaso sanguíneo.

U

- Uremia: también llamado síndrome urémico, es un conjunto de síntomas cerebrales, respiratorios, circulatorios, digestivos, etc., producido por la acumulación en la sangre de los productos tóxicos que, en estado general normal, son eliminados por el riñón y que se hallan retenidos por un trastorno del funcionamiento renal.

- Uretritis: es la hinchazón e irritación (inflamación) de la uretra.

- Urianalisis: es un conjunto de pruebas que dan una idea general acerca de la orina desde el punto de vista físico, químico y microscópico; de este modo permite obtener una idea general del estado de salud del organismo.

- Urocromo: es un pigmento amarillo que se obtiene durante el procesamiento en el hígado de las células sanguíneas muertas.

- Urología: se ocupa del estudio, diagnóstico y tratamiento de las patologías que afectan al aparato urinario.

V

- Vacuolas: son estructuras celulares variables en número y forma, constituidas por una membrana y un contenido interno.

LITERATURA CONSULTADA

1. Aguirre Ibáñez, JA. 2006. **Comparación de Dos Técnicas Coprológicas para el Diagnóstico de Endoparásitos del Perro**. Tesis Médico Veterinario. Valdivia, CH. UACH. 24 p.

2. Baker, FJ; Breach, MR. 1970. **Manual de Técnica Bacteriológica**. Trad. Olivares Bosque, L. 2 ed. Zaragoza, España. Acribia. 510 p.

3. Barriga, O. 2002. **Las Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos en la América Latina.** 1 ed. Chile. 259 p.

4. Benbrook, EA; Sloss, MW. 1966. **Parasitología Clínica Veterinaria.** Ed. Naranjo, RM. 3 ed. La Habana, Cuba. Edición Revolucionaria.

5. Benjamín, MM. 1962. **Compendio de Patología Clínica Veterinaria.** Trad. Sanz Sainz, P. 2 ed. México. Continental. 351 p.

6. Bergey. 2005. **Berguey's Manual of Systematic Bacteriology: vol. 2 The Proteobacteria, part. C.** Ed. Brenner, J.; Krieg, NR; Staley, JT. 2 ed. United State of America. 1363 p.

7. Blagburn, BL; Dryden, MW. 2000. **Pfizer Atlas of Veterinary Clinical Parasitology.** United State of America. Pfizer Animal Health. 46 p.

8. Bowman, DD; Fogarty, EA. 2003. **Parasitología: Diagnostico en Perros y Gatos**. 1 ed. Wilmington, Delawer. Nestlé Purina PetCare Company. 73 p.

9. Bush, BM. 1999. **Interpretación de los Análisis de Laboratorio para Clínicos de Pequeñas Especies**; Trad. González, SL. 1 ed. Ediciones S. 611 p.

10. Cabazas Zubieta, I. 2008. **Hemobartonelosis Canina (en línea)**. REDVET. vol. IX no. 2. Disponible en http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n020208/020809.ppt

11. Chew, DJ; DiBartola, SP. 1998. **Interpretación del Urianalisis Canino y Felino**. 1 ed. Wilmington, Delawer. Nestlé Purina PetCare Company. 71 p.

12. Coffin, DL. 1952. **Laboratorio Clínico en Medicina Veterinaria.** 3ª ed. Boston, Massachusetts. 355 p.

13. Colombini, OS. 2005. **Dermatología: Enfermedades Pruriticas de la Piel en Perros.** 1 ed. Wilmington, Delawer. Nestlé Purina PetCare Company. 64 p.

14. Correa Besa, J. Boassi Rocuant, S. 2006. **Patología Clínica, Hematología Clínica.** Chile. ULAM. 52 p.

15. Cowell, RL; Tyler RD. 2002. **Diagnostic Cytology and Hematology of the Horse**; 2 ed. United Stated of America. Mosby. 242 p.

16. Cunningham, JG; Klein BG. 2009. **Fisiología Veterinaria**. Ed. González, L; Robles, T. 4 ed. Barcelona, España. El Sevier. 718 p.

17. Duncan, JR; Prasse, KW. 2005. **Patología Clínica Veterinaria.** Ed. Latimer, KS; Mahaffey, EA; Prasse, KW. 4 ed. Barcelona, España. Multimedica. 557 p.

18. Fermín Rodríguez, ML. 2004. **Sedimento Urinario y Citología Urogenital.** Seminario XVIII Congreso Anual. AMVAC. Madrid, España. 12 p.

19. Foreyt, WJ. 2001. **Veterinary Parasitology Reference Manual**. 5 ed. United State of America. Blackwell Publishing. 246 p.

20. Grupo de Diagnostico Veterinario. 2007. **Manual de Buenas Prácticas de Laboratorio para Registro ante el ICA**. Colombia. 28 p.

21. Goldman, AA; Fernández De Vanna, EL. 2006. **Dermatomicosis (en línea).** Disponible en http://perros.mascotia.com/enfermedades/zoonosis/dermatomicosis.html

22. Hareu, M; Kanroth, T; Aramendia, ME. 2009?. **Interpretación de un Hemograma Completo y su Aplicación Práctica.** Ed. Adrien, L; Rivero, R. 26 p.

23. Harvey, JW. 2001. **Atlas of Veterinary Hematology, Blood and Bone Marrow of Domestic Animal**. El Sevier. 224 p.

24. Ihrke, PJ. 2010. **Procedimientos Diagnósticos en Dermatología Veterinaria (en línea).** California, UUEE. Universidad de California. Disponible en http://www.amvepa.org.py/index.php?option=com_content&view=category&layout=blog&id=45&Itemid=92

25. ISO (Organización Internacional de Normalización); IEC (Comisión Electrotécnica Internacional). 2005. **ISO/IEC 17025: Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y de Calibración**. 2 ed. 38 p.

26. Jacoba Pérez, CA. 2008. **Dermatofitosis en Perros.** Ed. Padilla Arellanes, S. 1 ed. México. UMICH; 69 p.

27. Jardon Herrera SG. 2003. **Hematología en Medicina Veterinaria.** 2 ed. México. UNAM; 74 p.

28. Jardon Herrera, SG; Bouda, J; García Escamilla, RM; García Ortuño, LE; Lima Melo, A; Mondragón Vargas, RL; Quiroz Rocha, G; Ramírez, G; Ruiz Skewes, H. 2003. **Manual de Práctica de Patología Clínica**. 1 ed. D.F., México. UNAM. 121 p.

29. Jungerman, PF; Schwartzman, RM. 1977. **Micología Médica Veterinaria.** Ed. Ramírez Valenzuela, M. 1 ed. Continental S.A. México. 240 p.

30. Kolb, E; Gürtler, H; Ketz, HA; Seidel, H. 1987. **Fisiología Veterinaria**. Trad. Kolb, E; Esain Escobar, J; Pérez Torrome, A; Oliment Peris, S; Núñez Cachazo, A. 3 ed. vol. 1. Acribia. Zaragoza, España. 569 p.

31. Lamping Larios, M; García, T. 1996. **Anatomía y Fisiología de los Animales Domésticos, Manual para Estudiantes de Ciencias Agropecuarias en Educación Superior.** Nicaragua. UNA. 241 p.

32. León Goñi, AC; Gómez Rosales, D. 2008. **Ehrlichiosis Canina (en línea).** CENPALAB. REDVET. vol. IX no. 2. Disponible en http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n020208/020806.ppt

33. Locke, PH; Harvey, RG; Masan, IS. 1999. **Manual de Dermatología en Pequeños Animales.** BSAVA. Barcelona, España. Ediciones S. 346 p.

34. Lombardero, OJ. 1990. **Lecciones de Parasitología, 60 Ciclos de Interés Veterinario.** Buenos Aires, Argentina. Hemisferio Sur. 101 p.

35. McCurnin, DM. 1987. **Técnicas Veterinarias.** Trad. Caroll, M; Soto Flores, A. 1 ed. México. El Manual Moderno. 578 p.

36. Medway, W; Prier, J; Wilkinson J. 1973. **Patología Clínica Veterinaria.** Trad. Espínola, J; Ruiz, H. 1 ed. México. Hispanoamericana. 532 p.

37. Messeguer, JP. 1999. **Manual de Propedéutica y Biopatologia Clínica**. 2 ed. Zaragoza, España. MIRA. 390 p.

38. Messeguer, JP; Gómez Piquer, J; Verde Arribas, MT; Marca Andrés, C; Gascón Pérez, FM; Garcia-Belenguer Laita, S; Aceña Fabián, MC. 1992. **Manual Práctico de Análisis Clínicos en Veterinaria.** Zaragoza, España. MIRA. 445 p.

39. Meyer, DJ; Harvey. JW. 2007. **Medicina Laboratorial Veterinaria, Interpretación y Diagnosis.** 3 ed. Barcelona, España. Multimedica. 452 p.

40. Mora, C. 2009. **Manual de Toma, Almacenamiento y Transporte de Muestras para el Diagnóstico Veterinario.** Nicaragua. UNA. 27 p.

41. Morag, GK. 2002. **Veterinary Laboratory Medicine Clinical Biochemistry and Haematology.** 2 ed. Blacwell Science. 386 p.

42. Morfin Mata, M; Islas Ojeda, E. 2007?. **Manual de Prácticas del Laboratorio Clínico de Patología Diagnostica**. México. UAA. 93 p.

43. Murillo, A; Ramírez, F; Padilla, G; Gutiérrez, R; Zapata, B; Blanco, NA; Juárez, F; Navas, C; Thomas, G; Pérez, F; Barrios, R; Valverde, G; Blandón, JM; Tercero, JP; Torrez, HE; Obregón, M. 2001. **NTON 04 001-01: Requisitos Generales Para La Competencia De Laboratorios De Calibración Y Ensayo**; 1 ed. Nicaragua. 34 p.

44. Núñez Ochoa, L; Bouda, J. 2007. **Patología Clínica Veterinaria.** 2 ed. México. UNAM. 334 p.

45. Quiroz Romero, H. 1990. **Parasitología.** 4 ed. México. Limusa. 854 p.

46. Quiroz Romero, H. 2000. **Parasitología y Enfermedades Parasitarias de Animales Domésticos.** Ed. Grupo Noriega. 10 ed. México. Limusa. 876 p.

47. Radostits, OM; Mayhew, IG; Houston, DM. 2002. **Examen y Diagnóstico Clínico en Veterinaria.** 1 ed. Madrid, España. Harcourt. 785 p.

48. Reagan, WJ. 1999. **Hematología Veterinaria, Atlas de Especies Domesticas Comunes**. Ed. Sanders, TO; DeNicofa, DB. 78 p.

49. Rebar, AH. 2003. **Interpretación del Hemograma Canino y Felino.** Wilmington, Delawer. Nestlé Purina PetCare Company. 80 p.

50. Sink, CA; Feldman, BF. 2004. **Laboratory Urianalysis and Hematology for the Small Animal Practitioner**. United State of America. Teton NewMedia. 69 p.

51. Vignau, ML; Venturini, LM; Romero, JR; Eirás, DF; Basso, WV. 2005. **Parasitología Práctica y Modelos de Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos**. Buenos Aires, Argentina. UNLP. 187 p.

52. Villiers, E; Blackwood, L. 2005. **Manual de Diagnóstico de Laboratorio en Pequeños Animales.** BSAVA. 2 ed. España. Lexus. 657 p.

53. Zarate, JJ. 2007. **Manual de Parasitología.** México. UANL; 106 p.

"Por un Desarrollo Agrario
Integral y Sostenible"

"EL CLINICO QUE TRABAJA SIN EXAMENES DE LABORATORIO, ES COMO UN MARINO QUE NAVEGA SIN BRUJULA; MIENTRAS QUE EL MEDICO QUE TRABAJA BASANDOSE SOLO EN EXAMENES, ES COMO UN MARINO QUE NAVEGA SIN CONOCER SU DESTINO"

"EN AMBOS CASOS EL PACIENTE ESTA EN PELIGRO"

Correa y Boassi (2006)