

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIONARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**DETERMINACION DE PARAMETROS HEMATICOS EN
PERROS DE LA COMARCA LAGUNERA: SERIE BLANCA**

POR

CARLOS GUSTAVO RAMOS MONTAÑEZ

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

OCTUBRE, 2014

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**DETERMINACION DE PARAMETROS HEMATICOS EN
PERROS DE LA COMARCA LAGUNERA: SERIE BLANCA**

TESIS APROBADA POR

**M.C. MARGARITA YOLANDA MENDOZA RAMOS
ASESOR PRINCIPAL**

M.C.V. RAMON ALFREDO DELGADO GONZALEZ
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

OCTUBRE 2014

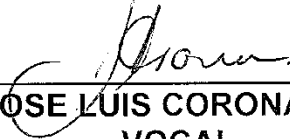
**DETERMINACION DE PARAMETROS HEMATICOS EN
PERROS DE LA COMARCA LAGUNERA: SERIE BLANCA**

**TESIS ELABORADA BAJO LA SUPERVISIÓN DEL COMITÉ
PARTICULAR DE ASESORÍA Y APROBADA COMO REQUISITO
PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA



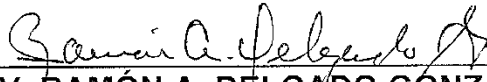
**M.C. MARGARITA YOLANDA MENDOZA RAMOS
PRESIDENTE**



**MC. JOSE LUIS CORONA MEDINA
VOCAL**



**IBQ. CRISTINA ESPARZA ALCALA
VOCAL**



**M.C.V. RAMÓN A. DELGADO GONZÁLEZ
VOCAL SUPLENTE**

TORREON, COAHUILA; MEXICO

OCTUBRE 2014

Dedicatoria

Principalmente a mis padres

Sr. Tomas Ramos Parra y a la Sra. Juana María Montañez Alvarado.

Agradecerles que desde el inicio de mi educación siempre haber estado presentes y gracias a ustedes he logrado concluir como Médico Veterinario Zootecnista.

Por todo el apoyo emocional y económico que a lo largo de mis veinte tres años nunca me ha hecho falta.

Por dedicar una vida de trabajo para tener todo lo necesario para que yo pudiera estudiar y sobre todo por la mejor herencia que me pudieron dejar que es mi carrera y el ejemplo de ser alguien en la vida.

Por todo el cariño y el apoyo

Gracias!!!

Agradecimientos

En primer lugar agradecer a Dios por haberme permitido estar al lado de mi familia y seres queridos en este momento importante que terminé mis estudios profesionales.

Agradecer a mi familia por todo el apoyo brindado durante mis estudios y principalmente en la vida.

Especialmente a la MC. Margarita Yolanda Mendoza Ramos y al MC. José Luis Corona por la confianza mostrada hacia mi persona para colaborar en este proyecto, pero sobre todo por el apoyo y asesoría durante la realización del mismo.

A mis hermanos y a mi novia por la ayuda para la realización de este proyecto.

Agradecer a todas las personas que estuvieron durante los 5 años de la carrera a mis amigos Ernesto Candelas y Oscar Jalife que fueron mis amigos durante todo ese tiempo y en especial a AngelElias Toscano Navarrete que fue mi compañero me ayudo demasiado y es muy querida por mi familia.

A esas personas que conocí en el transcurso de la carrera y que de ser compañeros se convirtieron en grandes amigos. Félix Bernal Salazar, Jesús Mendoza, Hayde Varela y Ana Gaby Reyes, agradecerles por todos los momentos que pasamos juntos, les deseo éxito en su vida profesional y personal ya que en la carrera demostraron ser los mejores.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, mi Alma Terra Mater por darme las facilidades de poder cumplir mi principal objetivo que es terminar mis estudios profesionales, por brindarme los mejores profesores, aulas y laboratorios durante mi preparación y hacer de mí un profesionista de calidad.

Índice de contenidos

1	Introducción	1
2	Objetivo	2
2.1	Justificación	2
3	Marco Teórico	3
3.1	Datos del hemograma que constituyen la Fórmula Blanca	3
3.2	Valores de referencia.....	3
3.3	Importancia de los valores de referencia.....	4
3.4	Composición de la sangre.....	4
3.5	Leucopoyesis	6
3.6	Funciones de los elementos sanguíneos dela fórmula blanca.	6
3.7	Morfología del neutrófilo.....	7
3.8	Función del neutrófilo.....	8
3.9	Eosinófilos	9
3.10	Morfología de los Eosinófilos.....	10
3.11	Basófilos.....	10
3.12	Morfología de los basófilos	11
3.13	Linfocitos.....	12
3.14	Morfología de los linfocitos.....	13
3.15	Monocitos.....	14
3.16	Morfología de los Monocitos.....	14
3.17	Factores que influyen en los valores circulantes.....	15
4	Materiales y Métodos.....	21
5	Resultados y discusión.....	25
6	Conclusión.....	28
7	Literatura citada	29

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

CUADRO 1. RESULTADOS DE LEUCOCITOS PARA CANINOS DE LA REGION LAGUNERA.....	25
CUADRO 2. RESULTADOS DE NEUTRÓFILOS PARA CANINOS EN LA REGION LAGUNERA.....	26
CUADRO 3. RESULTADOS DE LINFOCITOS PARA CANINOS EN LA REGION LAGUNERA.....	26
CUADRO 4. RESULTADOS DE MONOCITOS PARA CANINOS EN LA REGION LAGUNERA.....	27
CUADRO 5. RESULTADOS DE EOSINÓFILOS PARA CANINOS DE LA REGION LAGUNERA.....	27
CUADRO 6. RESULTADOS DE BASOFILOS PARA CANINOS DE LA REGION LAGUNERA.....	28
FIGURA 1. NEUTRÓFILO DE PERRO	7
FIGURA 2. EOSINÓFILO DE PERRO	10
FIGURA 3. BASÓFILO DE PERRO	12
FIGURA 4. LINFOCITO DE PERRO	13
FIGURA 5. MONOCITO DE PERRO	15
FIGURA 6. PLATAFORMA DE CONTEO	22
FIGURA 7. FROTIS SANGUINEO	23

Resumen

La biometría hemática es primordial para el diagnóstico y manejo de las enfermedades. En pocas disciplinas el médico puede hacer un diagnóstico específico y dar seguimiento al tratamiento con las muestras de un tejido tan accesible y una metodología disponible fácilmente.

En el presente trabajo se emplearon 105 muestras de sangre de perros (59 de machos y 46 de hembras) de la región lagunera a las que se les realizó la biometría para obtener parámetros hematológicos locales sobre las diferentes líneas celulares de la serie blanca.

Comparándolas con las ya publicadas en otras partes del mundo que difieren en las características climatológicas y enfermedades que prevalecen en nuestra región, con el estudio se llegó a la conclusión de que es conveniente utilizar los parámetros encontrados ya que si existen ciertas diferencias con los publicados anteriormente aunque falta hacer el estudio estadístico.

Palabras claves. Biometría hemática, leucocitos, neutrófilos, linfocitos, basófilos, eosinófilos, monocitos, parámetros hematológicos.

1 Introducción

El hemograma es el primer examen al que el clínico se enfrenta en la valoración diagnóstica de un paciente, y aunque se considera como un solo examen de laboratorio, en realidad, valora el estudio de tres líneas celulares, cada una con funciones diferentes, pero tienen en común que las produce la médula ósea; eritrocitos, leucocitos y plaquetas (Argüelles, 2009).

En la actualidad la biometría hemática la integran la interpretación de 15 parámetros. La serie roja la compone la determinación de los índices eritrocitarios primarios y secundarios. Los índices primarios se determinan en el laboratorio directamente de la muestra total del paciente y son; hemoglobina, hematocrito y el número de eritrocitos/mL y los índices secundarios son el volumen globular medio (VGM), la hemoglobina globular media (HGM) y la concentración media de hemoglobina globular. En los leucocitos se efectúan dos determinaciones principales 1) cuenta total de leucocitos, 2) cuenta diferencial de leucocitos y 3) cuenta diferencial de Shilling en los neutrófilos (McPherson y Pincus, 2011).

Estos estudios aportan datos cuantitativos (recuentos totales celulares, recuentos diferenciales totales, índices eritrocitarios, etc.) y cualitativos (morfología celular en la extensión sanguínea). Una interpretación adecuada depende de la integración de ambos tipos de información. La correcta interpretación depende también del desarrollo de una aproximación sistémica. Tanto para los datos cuantitativos como para los cualitativos, es recomendable primero la evaluación de los leucocitos, después los eritrocitos, y finalmente las plaquetas (Rebar, 2002).

Es una prueba de apoyo diagnóstico que consiste en la descripción morfológica y la medición absoluta y relativa de los tres tipos básicos de células que contienen la sangre: serie eritrocitaria, serie leucocitaria y serie plaquetaria. Cada una de estas series tiene funciones determinadas que se ven perturbadas ante la presentación

de alguna alteración en la cantidad o características de las células que las componen. Diversos factores que alteran esas funciones de manera normal son la altitud, latitud, temperatura y humedad relativa(Queraltó, 1993).

Además constituye una de las pruebas más solicitadas en el laboratorio clínico, y acompaña a casi todos los protocolos de diagnóstico, dado que este puede ser usado como una herramienta cuya interpretación sirve de apoyo en la instauración y seguimiento de terapias; además, evidencia en sus valores cambios progresivos acorde con la severidad de las enfermedades y puede ser utilizado como punto de partida para la formulación de diagnósticos diferenciales(Bossa-Miranda *et al.*, 2012).

2 Objetivo

Comprobar si los valores de referencia con los que se cuenta en la literatura para la fórmula blanca canina coinciden con los valores hallados en los perros sanos de la Comarca Lagunera.

2.1 Justificación

Cualquier tipo de análisis clínico, debe de tener un objetivo específico, su valor dependerá de una interpretación correcta de los resultados. Para esto el clínico, deberá tener conocimiento de los valores de referencia y causas patológicas que puedan alterar el resultado.

En las clínicas donde acude un gran número de pacientes caninos, los veterinarios disponen de poca información sobre los valores de referencia de la región, debido a la escasez de estos datos, surgió la inquietud de conocer estos valores, mediante los análisis y pruebas sanguíneas en perros de la región y esto pueda ser de gran apoyo para la mayoría de los clínicos de la comarca lagunera.

3 Marco Teórico

3.1 Datos del hemograma que constituyen la Fórmula Blanca

Para establecer el cuadro leucocitario se efectúan dos determinaciones principales; 1) cuenta total de leucocitos, 2) cuenta diferencial de leucocitos.

1. La cuenta total de leucocitos, en la actualidad, se realiza en aparatos automatizados, sin embargo todavía se hace manualmente en algunos casos. Hay variaciones por edad y algunos estados fisiológicos.
2. La cuenta diferencial se efectúa como valores porcentuales (relativos) que se obtiene a partir del conteo de 100 leucocitos al microscopio, en un frotis teñido con colorante Wright(Krause, 1994).

El conocimiento del cuadro blanco nos sirve para saber la producción, distribución y destino de cada tipo de leucocito, además de las funciones y características independientes de cada tipo de estos. Las variaciones normales de las cuentas leucocitarias totales y de las cuentas diferenciales para cada especie, son indicadores para solicitar o conducir los diferentes tipos de exámenes de sangre, para las interpretaciones de los resultados, donde se toman en cuenta los factores fisiopatológicos que influyen en las alteraciones(Benjamin, 1984).

3.2 Valores de referencia

Para interpretar y utilizar adecuadamente el hemograma es indispensable conocer los valores de referencia de las diferentes células sanguíneas, cuyos niveles están condicionados por las características propias de la población objeto, y su conocimiento permitirá establecer los límites de los intervalos de referencia con los cuales se podrán hacer comparaciones y valoraciones de los diferentes estados fisiológicos de los animales estudiados(Barger, 2003).

El intervalo de referencia se deriva de un grupo de individuos de prueba determinado, para el que rige una condición concreta. Es decir no pretende ser válida para todos los individuos de una raza o especie. El grupo de individuos de prueba debe presentar una distribución lo más similar posible a la población universal(Pedrozo *et al.*,2010).

Las mediciones y exámenes de laboratorio anormales se definen clínicamente como aquellos valores que no encuadran dentro de los límites del rango de referencia. Este se obtiene mediante el muestreo de una población representativa, con la eliminación estadística de los valores extremos, y los resultantes límites que definen valores “normales” equivalentes a la salud(Meyer y Harvey, 2000, Pedrozo *et al.*, 2010).

Observaciones hematológicas de individuos o grupo de animales son tradicionalmente comparados con intervalos de referencia desarrollados de una población correspondiente de animales usando técnicas de laboratorio similares(Aengwanichet *et al.*, 2007).

3.3 Importancia de los valores de referencia.

Los valores de referencia son usados para describir la dispersión de variables en individuos saludables(Geffré *et al.*, 2009), y son necesarios para juzgar si un resultado es normal o anormal. Un resultado de laboratorio carece de significado si se desconoce cuáles son los valores que tendrían los animales normales en dicha situación(Willard y Tvedten, 2004).

3.4 Composición de la sangre

La sangre es un tipo de tejido conjuntivo, y obtener una muestra de sangre es, en esencia, hacer una biopsia. La sangre está compuesta por diversas células,

rodeadas por una sustancia no celular, al igual que ocurre con otros tipos de tejidos, como el tejido fibroso, el hueso o el cartílago. Por supuesto, la diferencia principal es que la sustancia extracelular de la sangre es un líquido, llamado plasma. Esta característica, además del hecho de que la mayoría de este “tejido” se localiza cerca de la superficie animal, permite obtener una muestra de sangre de manera comparativamente más sencilla que obtenerla de órganos y tejidos más densos(Voigt, 2003).

Todas las células sanguíneas de la médula ósea surgen de una célula madre común. Esta célula madre multipotencial origina diferentes fases de células progenitoras, que posteriormente se diferencian en células de la serie eritrocítica, granulocítica, megacariocítica y agranulocítica (monocitos y linfocitos).El resultado final de este proceso es la emisión de eritrocitos, leucocitos y de plaquetas al torrente sanguíneo(Reagan *et al.*, 1999).

El tejido hematopoyético activo es muy vascular y consiste en islas de tejido hematopoyético rodeadas por senos vasculares. Las islas de tejido hematopoyético se componen de: series celulares eritroides, granulocíticas, monocíticas y trombocíticas, células estructurales de la médula(células adventicias); células grasas, y algunos macrófagos, linfocitos, células plasmáticas y mastocitos. Las islas de tejido hematopoyético se encuentran limitadas por el recubrimiento endotelial de los senos vasculares(Cowell, 2003).

La hematopoyesis durante la vida intrauterina se inicia en el saco vitelino, en el hígado, en el bazo y en la médula ósea; en esta última se va incrementando gradualmente su actividad, y al nacimiento es el principal órgano hematopoyético. Durante la vida posnatal, en la mayoría de los mamíferos, la hematopoyesis se restringe a la médula ósea, mientras que el hígado y el bazo son usualmente inactivos, pero mantienen su potencial hematopoyético, mismo que se activa al incrementarse las necesidades de las células sanguíneas. La médula ósea roja

activa es reemplazada por la médula amarilla en animales adultos, pero la hematopoyesis activa continúa a lo largo de la vida en los huesos planos y en las epífisis de los huesos largos(Ochoa y Bouda, 2007).

3.5 Leucopoyesis

Los leucocitos constituyen una población celular compuesta por diversos tipos, así, se les clasifica en polimorfonucleares, en los que se encuentran los neutrófilos, eosinófilos y basófilos; y en mononucleares, constituidos por monocitos y linfocitos. La granulopoyesis involucra la producción de neutrófilos, eosinófilos y basófilos, en un proceso ordenado(Ochoa y Bouda 2007).

La granulopoyesis constituye un proceso continuo de división celular diferenciación y maduración. Las células pluripotenciales se diferencian en mieloblastos que son las primeras células reconocibles de la serie granulocítica.La división y diferenciación de los mieloblastos resulta en generaciones secuenciales de progranulocitos y mielocitos.Las subsiguientes generaciones consisten en metamielocitos, neutrófilos en banda, y neutrófilos segmentados. Éstos últimos son las células postmitóticas que experimentan cambios nucleares y citoplasmáticos que las capacitan para realizar fagocitosis y tener actividad microbicida(Rebar, 2002).

3.6 Funciones de los elementos sanguíneos dela fórmula blanca.

Dispersados entre los eritrocitos, encontramos, células nucleares de distintos tamaños, algunas de las cuales contiene gránulos que se tiñen de diferentes colores. Estos son los leucocitos, de los que existen cinco tipos.El neutrófilo, eleosinófilo y el basófilo, presentan, por lo general, gránulos en su citoplasma fluido celular y detentan en la categoría de “granulocitos” mientras que el linfocito y el monocito son agranulocitos.

3.7 Morfología del neutrófilo.

La característica más fácilmente reconocible del neutrófilo, es el núcleo segmentado con sus 3-5 lóbulos, está presente en todas las especies, aunque el grado de segmentación puede variar desde una simple construcción (perro, caballo), hasta lobulados separados, unidos por estrechos filamentos (bovino). La cromatina nuclear esta apelmazada, grumosa y se tiñe de un color oscuro. El núcleo de un neutrófilo joven recién liberado al torrente sanguíneo, en cualquier especie, tiene una forma de lazo, o banda más pronunciada, con bordes paralelos, y se tiñe menos intensamente. En esta etapa del desarrollo se denomina neutrófilo "banda". El color del citoplasma del neutrófilo varia de azul oscuro a rosa, o, lo más habitual, transparente. Los órganos citoplasmáticos de la mayoría de las especies son finos, como polvo, y con la tinción, toman un color que puede variar del rosa claro al gris, pero que son, generalmente, demasiados pequeños para ser visibles a través del microscopio óptico. En algunos mamíferos (por ej., conejo y cobayo) y en la mayoría de las aves y reptiles, los gránulos serán visibles y se teñirán de un color más rojo: a menudo, estas células se denominan pseudoeosinófilos. En los neutrófilos de la hembra, puede observarse un apéndice del núcleo, en forma de masa, llamado cuerpo de Barr o palillo de tambor. Este apéndice parece ser un cromosoma X inactivo, y puede aparecer ocasionalmente en otra célula sanguínea o del organismo. Ocasionalmente, pueden observarse los cuerpos de Dohle, inclusiones azuladas en el citoplasma del neutrófilo, especialmente en el gato. Se observan mediante el microscopio electrónico, como un remanente del retículo endoplásmico rugoso (Reagan *et al.*, 1999).

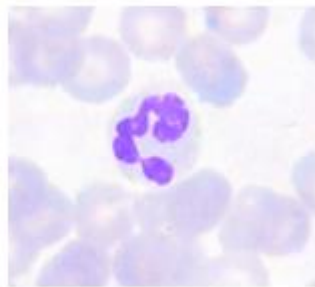


FIGURA 1. NEUTRÓFILO DE PERRO

3.8 Función del neutrófilo

Segmentado, o polimorfonuclear (PMN) se produce en la médula ósea, por mitosis y maduración de las células madre, un proceso que dura de 3 a 10 días. Los neutrófilos están presentes en la circulación durante una media de 6-7 horas, antes de emigrar de los vasos a los tejidos y cavidades del organismo. Tiene una vida media de 2-3 días una vez penetran en los tejidos o, en presencia de procesos patológicos, pueden sobrevivir unas pocas horas; los neutrófilos son el leucocito predominante en la sangre periférica de perro, gato, caballo y ser humano, pero en los rumiantes y en algunos animales de laboratorio, los linfocitos pueden superarlos en número. Su función primaria es la fagocitosis y la eliminación de diferentes organismos. Es la primera línea de defensa. Ejercen una actividad citotóxica antiparasitaria y antitumoral, y pueden causar daño tisular. El incremento de los valores absolutos de los neutrófilos, con relación a los valores de referencia, se expresa como neutrofilia (Ochoa y Bouda, 2007).

Las principales funciones del neutrófilo se encuentran asociadas a la fagocitosis y la inflamación. Las toxinas liberadas por las bacterias invasoras, y las sustancias químicas liberadas por el tejido dañado, atraen a los neutrófilos a la zona. Las pequeñas partículas y organismos, son ingeridas (fagocitadas), y destruidas por las enzimas proteolíticas de los gránulos del neutrófilo. En el caso de grandes partículas o superficies, que no pueden ser ingeridas, los gránulos enzimáticos son liberados al exterior de la célula, donde actúan sobre el organismo invasor y el tejido circundante. Esto incrementa la inflamación, y atrae a mayor número de leucocitos a la zona, con el resultado, presuntamente, de controlar la infección (Voigt, 2003).

Los neutrófilos constituyen la principal defensa contra la invasión de los tejidos por microorganismos. Los neutrófilos eliminan bacterias pero también pueden dañar o participar en la destrucción de hongos, algas y virus. Los neutrófilos se congregan

en los puntos donde se produce inflamación o infección bacteriana por un proceso de migración direccional o quimiotaxis. Los mediadores celulares, moleculares de la inflamación generan sustancias quimiotácticas, estimulan la liberación medular, y promueven la migración y adhesión de neutrófilos en las zonas inflamadas del endotelio vascular. Los neutrófilos abandonan el torrente circulatorio y entran en los tejidos por transmigración en las células endoteliales. En la zona de la inflamación, los neutrófilos son capaces de desarrollar fagocitosis y una actividad microbicida. La fusión de los gránulos lisosomales con las vesículas fagocíticas libera enzimas líticas y sustancias químicas capaces de destruir a las bacterias (Rebar, 2002).

3.9 Eosinófilos

Participan en la regulación de reacciones alérgicas, inflamatorias, de control y de eliminación de infestaciones por parásitos, principalmente aquellos que tienen fases migratorias. Los eosinófilos constituyen el principal componente de las reacciones de hipersensibilidad sistémicas. Cuando los antígenos de los parásitos o alérgenos se unen a las IgE específicas de los mastocitos, estimulan la degranulación de éstos y se libera así histamina que atrae a los eosinófilos. Son los principales responsables en eliminar trematodos y nematodos que presentan IgG o componente unido a su superficie. Tienen una capacidad fagocítica o bacteriana limitada y pueden desempeñar cierto papel en la destrucción de células neoplásicas (Rebar, 2002).

El eosinófilo ejerce varias funciones, que no suelen estar relacionadas entre sí. Es atraído por la histamina, por complejos antígeno-anticuerpo, y por proteínas orgánicas extrañas o degradadas, asociadas a la inflamación y a los procesos alérgicos (Argüelles, 2009).

3.10 Morfología de los Eosinófilos

Existen diferencias morfológicas marcadas entre los eosinófilos de las diferentes especies. Los eosinófilos caninos, tienen el tamaño de 12-20 μ de diámetro parecido o ligeramente mayor que un neutrófilo con núcleo lobulado o parcialmente segmentado con la cromatina densa, púrpura oscuro el citoplasma tiene gránulos naranja rojizos redondos variables en tamaño y número. En ocasiones, el eosinófilo canino puede contener un único gránulo grande y redondo que recuerda en tamaño y color a un eritrocito, en el caso de los felinos el tamaño es de 12-20 μ en diámetro, parecido o ligeramente mayor que un neutrófilo con núcleo lobulado o segmentado con cromatina densa oscura, citoplasma abundante, gránulos rosa claros en forma de bacilo (Rebar, 2002).

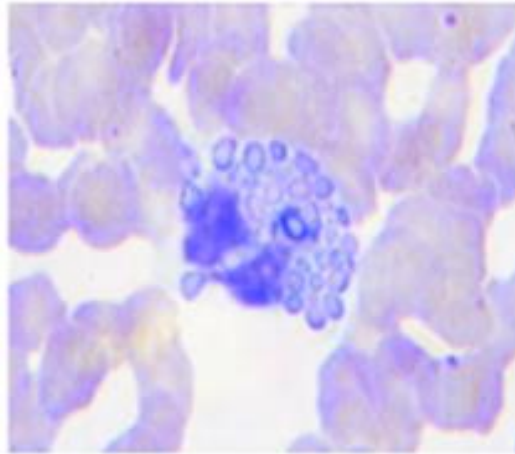


FIGURA 2. EOSINÓFILO DE PERRO

3.11 Basófilos

La función del basófilo y de la célula cebada se basa en la sensibilidad de los receptores de su membrana a una amplia variedad de sustancias como la prostaglandinas, inmunoglobulinas (anticuerpos), el complemento, endotoxinas, e histamina. A menudo poseen, o pueden desarrollar, receptores para

alérgenos como polvo, moho, y otras proteínas, incluyendo algunos virus. Cuando se estimulan dichos receptores, las células liberan los gránulos que contienen, los cuales están compuesto por histamina, dopamina, serotonina, heparina, peroxidasa, y otras enzimas, e inician una reacción inflamatoria aguda. Siendo habitualmente un mecanismo de protección, una degranulación excesiva puede producir una hipersensibilidad local, o generalizada, y reacciones alérgicas. Tanto el basófilo como la célula cebada pueden resintetizar sus gránulos después de la degranulación (Aengwanichet *et al.*, 2007).

Los basófilos activados sintetizan diversas citoquinas que inician o modulan la respuesta inflamatoria. La histamina liberada por los basófilos y los mastocitos juega un papel primordial en la reacción de hipersensibilidad inmediata como la que ocurre en la urticaria, anafilaxis y alergia aguda (Rebar, 2002).

3.12 Morfología de los basófilos

Existen marcadas diferencias interespecíficas en la morfología del basófilo. Núcleo lobulado segmentado, citoplasma púrpura o gris con unos pocos gránulos oscuros. En algunos basófilos los gránulos pueden ser escasos o ausentes. En el felino el núcleo lobulado segmentado con una ligera cromatina uniforme, muy similar al núcleo de monocito, citoplasma con numerosos gránulos pequeños de color azul claro (Rebar, 2002).

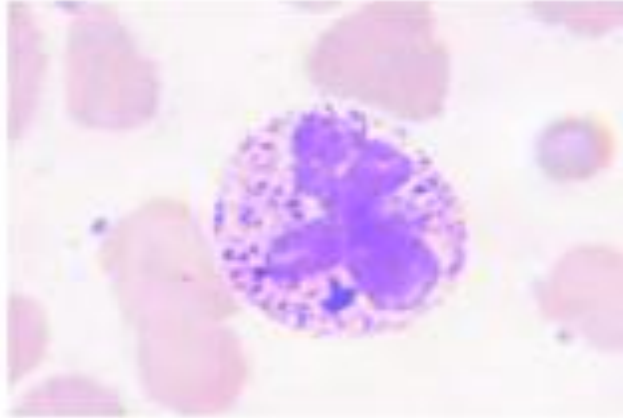


FIGURA 3. BASÓFILO DE PERRO

3.13 Linfocitos

El linfocito, es la célula principal de las involucradas en la respuesta inmune. Normalmente, encontramos tres tipos diferentes de linfocitos, denominados B, T y linfocitos nulos, pero parecen idénticos bajo el microscopio óptico. Los linfocitos B se denominan así debido a que en las aves es necesaria una estructura llamada bolsa de Fabricio, para que la actividad de estas células sea correcta. Los mamíferos, no poseen dicha estructura, así que se utiliza el término “bursaequivalente” indicando que, probablemente, la médula ósea, o las placas de Peyer cumplan la misma función que la bolsa. Los linfocitos B son las células productoras de anticuerpos del sistema inmune humoral. Los linfocitos T son “timodependientes”. A pesar de la atrofia del timo a una edad adulta temprana, éste deberá estar presente durante la vida fetal y posnatal temprana para que los linfocitos T alcancen un desarrollo correcto y funcional en la respuesta inmune mediada por células. Los linfocitos B y T se producen en tejido linfoide del organismo, no en la bolsa o el timo, pero en dichas estructuras deben estar presentes para que existan ambos tipos de células. Un pequeño número de los linfocitos circulantes son denominados linfocitos no-B y no-T (nulos), ya que los marcadores de la superficie difieren de aquellos que poseen los grupos B o T. La función de los linfocitos nulos no se ha determinado, pero posiblemente sean células asesinas (NK) del mecanismo defensivo inmunitario inespecífico (Voigt, 2003).

Son las células del sistema inmunitario específico. Los linfocitos B se diferencian en las células plasmáticas que producen anticuerpos (inmunidad humoral). Los linfocitos T son responsables de la inmunidad celular mediante la formación y liberación de moléculas conocidas colectivamente como citoquinas. Los linfocitos de la sangre periférica constituyen las células de memoria del sistema inmunitario. A medida que recirculan, los linfocitos están vigilantes ante la posible presencia de antígenos a los cuales ya han estado previamente sensibilizados. Cuando los linfocitos que están activados por ese contacto previo entran a los linfonodos, pueden iniciar tanto la respuesta inmune celular como humoral a través de una expansión clonal selectiva (Rebar, 2002).

3.14 Morfología de los linfocitos

El núcleo en los linfocitos contiene cromatina compacta, su forma es redonda aunque puede ser oval o ligeramente indentada, el nucléolo no es visto por lo general. La cantidad de citoplasma es escasa en los linfocitos pequeños, pero puede ser abundante en los linfocitos grandes, el color que adquieren con la tinción de Wright es azul, y una pequeña cantidad de gránulos azurófilos pueden ser vistos en su citoplasma (Pedrozo *et al.*, 2010).

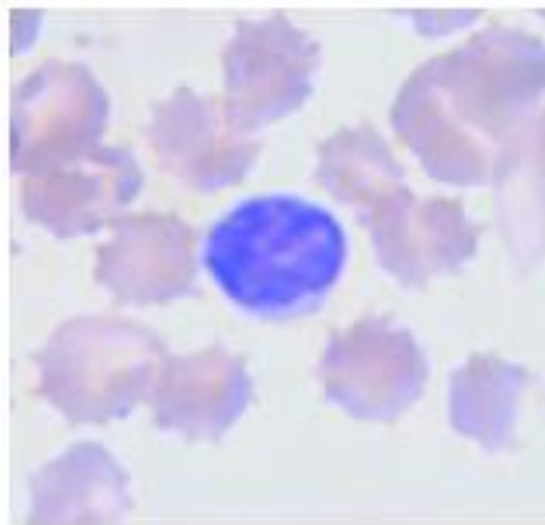


FIGURA 4.LINFOCITO DE PERRO

3.15 Monocitos

Los monocitos se forman en la médula ósea, con un periodo de producción de 2-4 días. Los monocitos recién formados son liberados al torrente sanguíneo conforme son producidos, y pueden circular hasta dos días. Después de emigrar hacia tejidos y cavidades del organismo, se convierten en macrófagos libres o fijos, que se pueden encontrar básicamente en todos los tejidos del organismo. Su supervivencia en los tejidos varía de días, a posiblemente meses.

La principal función del monocito/macrófago responde a su capacidad fagocítica. Ingieren y destruyen organismos que no pueden ser controlados por los neutrófilos, especialmente hongos, protozoos, organismos intracelulares y algunas bacterias. Los macrófagos, eliminan residuos de los tejidos y partículas extrañas de zonas deterioradas, e ingieren células muertas o deterioradas, y fragmentos celulares. El macrófago juega un importante papel en la respuesta inmune, reconociendo, tomando, procesando antígenos extraños de todo el organismo para presentarlos ante los linfocitos (Voigt, 2003).

3.16 Morfología de los Monocitos

Posee un núcleo grande amorfo, la cromatina nuclear está distribuida en forma de listones y bandas, presenta uno o dos pequeños nucléolos, su citoplasma es abundante de color azul grisáceo, contiene numerosas vacuolas, especialmente en un extremo de la célula, es muy frecuente detectar pseudópodos en la membrana celular, lo cual refleja su actividad motriz (Pedrozo *et al.*, 2010).

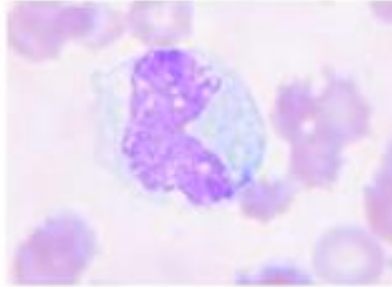


FIGURA 5. MONOCITO DE PERRO

3.17 Factores que influyen en los valores circulantes

Cualquier incremento en el número de neutrófilos circulantes se denomina neutrofilia. Si ésta se asocia a un incremento de los leucocitos totales, el término correcto será "leucocitosis neutrofílica". Un rápido incremento de número de neutrófilos se deberá al intercambio de células desde los reservorios marginales y de depósito al reservorio circulante. En cuestión de días, células provenientes del reservorio de proliferación se liberarán con mayor celeridad al torrente sanguíneo, en ocasiones antes de su completa maduración. Algunas de las causas más habituales de la neutrofilia son (1) organismos infecciosos, especialmente bacterias piógenas (formadoras de pus), (2) inflamación, especialmente si incluye necrosis tisular, por ejemplo, Traumas), (3) neoplasias, (4) intoxicaciones, y (5) presencia de corticosteroides o epinefrina, ya sean administrados o endógenos (producidos por el organismo) debido a la excitación o estrés.

La neutropenia, un descenso de los neutrófilos circulantes, suele deberse a un rápido movimiento de células hacia el reservorio tisular, o un descenso del número de células disponibles en los reservorios de proliferación y de depósito. Puede observarse una neutropenia temporal, en respuesta a la infección, cuando la mayoría de las células disponibles salen rápidamente de los vasos, pero el recuento total circulante se repone rápidamente. Este efecto es más pronunciado en los bovinos.

Otras causas de neutropenia incluyen (1) supresión de la médula ósea por agentes víricos o químicos, (2) grandes infecciones bacterianas, y (3) secuestro de células en los lechos capilares por shock endóxico, séptico o anafiláctico (Ochoa y Bouda, 2007).

Cambios cualitativos

Los cambios en el estado de maduración en el momento de liberarse de la médula ósea pueden apreciarse en cualquier granulocito, pero resultan más evidentes, y están mejor clasificados en el neutrófilo.

Normalmente las células han alcanzado la etapa de segmentada “adulta” antes de ser liberadas a la circulación, aunque también se libera un pequeño porcentaje de neutrófilos en banda. Cuando se produce una rápida pérdida, y aumenta la demanda de neutrófilos, como en las infecciones o en una lesión tisular, la mayor rapidez de liberación celular de la médula ósea proporcionará, generalmente, un mayor porcentaje de formas inmaduras. Esto se denomina desviación a la izquierda.

Cuando el recuento total de leucocitos se eleva debido a una neutrofilia, y el número de formas inmaduras presentes se mantiene igual o menor que el de las maduras o neutrófilos segmentados, se denomina desviación a la izquierda regenerativa. Esto indica una respuesta adecuada de la médula ósea, que cuenta con el suficiente tiempo y la suficiente capacidad como para responder al incremento de la demanda.

En una desviación a la izquierda degenerativa, el recuento total de leucocitos y neutrófilos puede ser normal, aunque generalmente se encuentra en decadencia, y el número de neutrófilos inmaduros sobrepasa al de formas maduras. Tanto el reservorio marginal, como el de depósito se han agotado, y la médula ósea no puede cubrir la demanda, o no dispone del tiempo necesario para la

producción. En la mayoría de las especies esto presenta un mal pronóstico. En bovinos, sin embargo, una desviación a la izquierda degenerativa es habitual, y solo se considera grave si persiste durante varios días.

Cualquier neutrófilo con más de cinco segmentos nucleares se denomina hipersegmentado, y representa una edad avanzada de la célula. Esto puede observarse cuando el neutrófilo ha permanecido en la circulación durante más tiempo de lo habitual, por causa de la presencia prolongada de corticosteroides debido al estrés, o a un tratamiento, la hipersegmentación también puede apreciarse en las muestras de sangre que se han almacenado durante demasiado tiempo.

Debido a infecciones severas, toxicidad, o acidosis, los neutrófilos sufrirán a menudo cambios característicos, como alteraciones tóxicas. El citoplasma del neutrófilo tóxico se teñirá de un azul más oscuro (es decir se hará basofílico) y presentará un aspecto espumoso o con pequeñas vacuolas. También pueden aparecer en el citoplasma numerosos gránulos densamente teñidos (granulación tóxica) junto con grandes estructuras teñidas de azul, denominadas cuerpos de Dohle. Los neutrófilos tóxicos a menudo acompañan a una desviación a la izquierda degenerativa, y son un signo de un pronóstico negativo (Voigt, 2003).

Las principales causas de neutrofilias son: Estrés, corticoterapia, inflamación, hiperadrenocorticismos, ejercicio y leucemia. La disminución de los valores absolutos de los neutrófilos con relación a los valores de referencia se denomina neutropenia.

Las principales causas de neutropenia son: Inflamación severa, infecciones por gram negativos (marginación), destrucción excesiva (inmunomediadas), mielosupresión (FeLV, PIF, antineoplásicos, antibióticos, estrógenos, etc.), hipoplasia mieloide (mielofibrosis, estrógenos, etc.), (Ochoa y Bouda, 2007).

La eosinofilia periférica se asocia generalmente con alergias y parasitismos. Puede producirse una eosinofilia periférica en infecciones crónicas o en etapas de recuperación de infecciones agudas, así como en cualquier situación en la que se produce un aumento de basófilos o células cebadas. Algunos procesos se caracterizan por la presencia de eosinófilos, como en miositiseosinofílica o la gastritis eosinofílica. La producción de eosinófilos de la médula ósea es similar a la de neutrófilo, y tiene una duración de 2 a 6 días.

Muchos eosinófilos maduros permanecen en la médula ósea, formando un gran reservorio de depósito. Las células que penetran en el torrente sanguíneo circulan durante 6-10 horas antes de migrar a los tejidos o cavidades del organismo, donde pueden permanecer durante varios días.

Un descenso de los eosinófilos circulantes (eosinopenia) resulta difícil de detectar, debido a que, en los recuentos diferenciales en animales sanos pueden o no aparecer eosinófilos. Se produce una eosinopenia absoluta en condiciones de estrés, o por causa de la administración de corticosteroides o epinefrina (Voigt, 2003).

Se conoce relativamente poco sobre la producción, circulación y función de los basófilos, debido a su rara presencia en la sangre y médula ósea. Son producidos por ésta última, aparentemente de manera similar a la de los demás granulocitos, y tiene un periodo vital de 10-12 días.

Puede observarse un ligero incremento en el número de basófilos asociado a procesos causantes de eosinofilia, como alergias y parásitos en estadio de migración, y en algunas alteraciones endocrinas. Frecuentemente puede darse una aparente basofilia con el sarcoma de células cebadas (mastocitoma/mastocitosis); resulta difícil diferenciar entre células cebadas circulantes y basófilos.

Ya que los basófilos suelen estar ausentes de la sangre periférica, la basopenia no es importante desde el punto de vista clínico (Voigt, 2003).

Linfocitosis

Aunque la secuencia de desarrollo es la misma, la producción de linfocitos es mayor y más compleja que la del resto de los leucocitos, los lugares en los que se producen son la médula ósea; los órganos linfoides, que incluyen los linfonodos, el bazo y el timo (durante la vida fetal y neonatal temprana); y el tejido linfoide asociado al tracto digestivo, como las placas de Peyer, las amígdalas, y el apéndice. La principal función de la producción medular y tímica parece ser la de proporcionar células precursoras al tejido linfoide periférico. El tiempo de maduración normal médula ósea es de 2 a 5 días, pero se estimula en presencia de antígenos en los tejidos linfoides, pudiendo acortarse hasta 6-8 horas. Encontramos ambos tipos de linfocitos, los de vida corta, y los de vida larga (memoria), con periodos vitales que varían entre unos pocos días y más frecuente en la circulación de los rumiantes, y el segundo, después de los neutrófilos, en la mayoría de las demás especies. Los linfocitos son únicos entre los leucocitos ya que después de haber migrado a los tejidos, vuelven a incorporarse a la circulación sanguínea a través de los canales linfáticos.

En animales muy jóvenes, atemorizados o excitados, o animales con actividad muscular, se producirá frecuentemente un aumento fisiológico de linfocitos circulantes (linfocitosis), similar al visto en los neutrófilos.

Otras causas de linfocitosis son la estimulación antigénica crónica, especialmente si está producida por virus, parásitos sanguíneos y postinmunización. Pueden observarse linfocitosis que incluyan presencia de linfoblastos, u otros linfocitos anómalos, en neoplasias linfoides (leucemia y linfosarcoma).

Pueden observarse linfopenias (linfopenia) inducidas por corticosteroides, asociadas al estrés crónico. Los virus inmunosupresores pueden producir una linfopenia, o una panleucopenia (descenso de todos los glóbulos blancos). La radiación y la quimioterapia, son asociadas al tratamiento de cáncer, disminuyen, generalmente, en número de linfocitos. Algunos casos de neoplasias linfocíticas, disminuirán el número de linfocitos (Voigt, 2003).

Las principales causas de linfocitosis son: Vacunaciones, animales jóvenes (fisiológica), leucemia linfocítica y linfoma leucémico.

Una disminución de los valores absolutos de los linfocitos con relación a los valores de referencia, según la especie, se refiere como una linfopenia. Las principales causas de linfopenia son: Estrés, hiperadrenocorticismos, corticoterapia, infecciones virales, como el moquillo canino, linfangiectasia y quilotorax.

También se conocen como inmunocitos o virocitos, e indican reacciones inmunes. Linfocitos atípicos su presencia indica: Leucemia linfocítica, linfoma leucémico (Ochoa y Bouda, 2007).

Monocitos

Debido a que los monocitos no se movilizan con tanta rapidez como los demás leucocitos, un incremento en el recuento de monocitos (monocitosis) suele indicar una infección crónica, una respuesta inflamatoria, o una fase de recuperación después de un proceso agudo. Estados que presentan grandes cantidades de tejido necrótico y residuos celulares, por ejemplo, un piotorax o una retención placentaria, serán altamente quimiotácticos (atractivos químicamente) para los monocitos. También es frecuente la monocitosis en enfermedades que estimulan una respuesta inflamatoria de tipo granulomatosa, como la tuberculosis, la brucelosis, y la mayoría de las enfermedades fúngicas internas. Se observa un

incremento del recuento de monocitos en algunas especies, especialmente en el perro, en respuesta al estrés, o a la administración de corticosteroides. Puede producirse una monocitopenia (descenso de la cantidad circulante) durante estadios agudos de infección inflamación. Así mismo, puede ocurrir con la administración de corticosteroides en algunas especies. Debido a que el recuento de monocitos es mínimo, la monocitopenia es de poca importancia clínica (Voigt, 2003).

4 Materiales y Métodos

Para este experimento se tomaron 105 muestras de sangre de perros siendo en total 46 muestras de hembras y 59 muestras de machos, de la comarca lagunera de las ciudades de Torreón Coahuila, Gómez Palacio y Ciudad Lerdo Durango , las muestras se tomaron de perros de diferentes raza, clínicamente sanos con una vacunación anual vigente y un buen estado nutricional.

El sistema para extracción de muestras incluyó un adaptador de vacutainer, una aguja, y los tubos tipo Vacutainer con anticoagulante EDTA.

Las muestras fueron tomadas de la vena cefálica. El procedimiento requirió que el perro se colocara en posición de decúbito esternal o sentado. Con la otra mano agarrando el antebrazo en la parte del codo, lateralmente y moviendo la vena dorsal, por la compresión, identificando la vena y utilizando el dispositivo para extracción de la muestra.

Las muestras se trabajaron en el laboratorio de diagnostico de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro ubicada en la ciudad de Torreón Coahuila.

Para obtener los datos de la fórmula blanca, se hizo una cuenta total de leucocitos y la cuenta diferencial en frotis sanguíneo, bajo el siguiente esquema:

Cuenta leucocitaria

- 1- La sangre con anticoagulante se mezcló cuidadosamente, invirtiendo el tubo por lo menos 20 veces.
- 2- Con la pipeta de Thoma para la cuenta de células blancas, y mediante una manguera de hule, se extrajo la cantidad exacta de sangre hasta la marca 0.5 y se secó la que quedó en la parte externa.
- 3- Se colocó la pipeta en el líquido para diluir leucocitos y se llenó lentamente hasta la marca número 11 que está por arriba del bulbo. Esto proporciona una dilución de 1:20.
- 4- Una vez agitada la muestra en el agitador mecánico se desecharon 2 a 3 gotas de la pipeta antes de llenar la cámara contadora. Se dejó por lo menos un minuto para que los eritrocitos se lisaran y que los leucocitos se sedimentaran.
- 5- Con el objetivo de poco aumento (10X) se contaron las células de cada uno de los cuadros grandes de las esquinas.

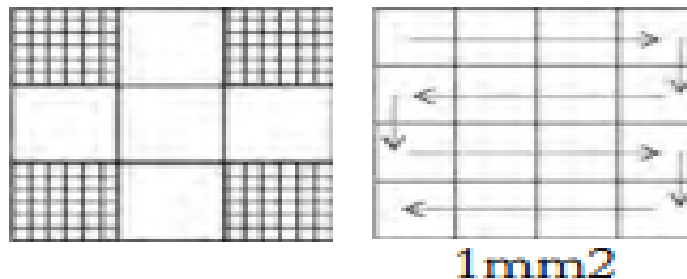


FIGURA 6. PLATAFORMA DE CONTEO

Cálculo

Células contadas X 20(dilución de 1:20) X 10 (profundidad 0.1 mm)=Leucocito/microlitro

4(número de mm cuadrados contados)

O la suma de las células de las esquinas de los 4 cuadros X 50 =Leucocitos totales /microlitro.

Cuenta diferencial

Se usaron portaobjetos nuevos para microscopio, con los bordes biselados. Los frotis se hicieron con sangre fresca, La sangre se mezcló bien agitando suavemente, antes de usar un tubo capilar o el aplicador para colocar una pequeña gota en uno de los extremos del portaobjetos, el cual se colocó sobre una superficie sólida y plana.

1. Se colocó el extremo de un segundo porta objetos (portaobjetos para extender) contra la superficie del primero, sosteniéndolo a un ángulo de aproximadamente 30°.
2. El portaobjetos se deslizó suavemente para extender la gota de sangre; cuando esta se extendió sobre aproximadamente dos tercios del ancho del portaobjetos, por acción capilar se movió hacia delante con un movimiento suave y uniforme. La sangre recorrió formando una película delgada.
3. La preparación se secó rápidamente ondeándola en el aire.
4. Para lograr mejores resultados la tinción se hizo antes de una hora.

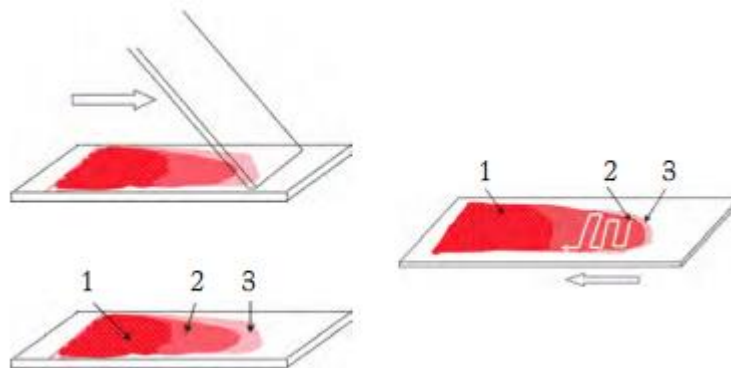


FIGURA 7. FROTIS SANGUINEO

Equipo de reactivos para tinción rápida de frotis;

El equipo HEMOCROM, se integra por los siguientes tres reactivos:

1. Solución colorante de Eosina Amarillenta
2. Solución amortiguadora pH en 100 ml.
3. Solución colorante de Azul de Metileno en 100 ml.

Procedimiento

1. Se preparó el frotis sanguíneo tomando en consideración que uno de los extremos del portaobjetos sirviera de sostén para el momento de la inmersión de los reactivos. Se empleo alcohol metílico como fijador del frotis y se esperó que seicara.
2. Se realizó la inmersión del frotis en el HEMOCROM Reactivo 1 de 10 a 15 segundos.
3. Se enjuagó el frotis con el HEMOCROM Reactivo 2 eliminando excedente, sin sumergir el frotis en la solución amortiguadora, solo enjuagándolo.
4. Se realizó la inmersión del frotis en el HEMOCROM Reactivo 3 de 10 a 15 segundos.
5. Se enjuagó el frotis con el HEMOCROM Reactivo 2 y dejó que seicara.
6. El frotis quedaba listo para ser observado al microscopio.
7. Se contaron 100 células anotando a que tipo celular pertenecía cada una, reportando con ello el porcentaje de cada tipo que se encontró (Lynch *et al.*, 1987).

Los resultados se analizaron por separado para hembras y machos, ya que la literatura señala que los resultados son diferentes en base al sexo.

Se separaron también por línea celular de la siguiente manera: Leucocitos totales (en miles/L), neutrófilos (%), linfocitos (%), monocitos (%), basófilos (%) y eosinófilos(%). Una vez que se tuvieron los resultados se calcularon los datos estadísticos: media y desviación estándar.

Se restó a la media una desviación estándar y se sumó una desviación estándar, con el fin de manejar rangos y poder compararlos con los rangos establecidos en la literatura, quedando los datos como se muestra en los cuadros de resultados.

5 Resultados y discusión.

CUADRO1. RESULTADOS DE LEUCOCITOS PARA CANINOS DE LA REGION LAGUNERA

LEUCOCITOS TOTALES (10³)/L	
MACHOS	(6.7-11.4)
HEMBRAS	(6.6-12.4)

Los resultados del primer cuadro (leucocitos totales) coinciden en su límite inferior con los mostrados por la referencia de Dill y Forbes (1947). Pero el límite máximo es mayor. Rangos de la referencia dos (5.45-28.25).

En la referencia dos (Schalm, 1958), el límite inferior es parecido al encontrado en la región lagunera pero el máximo también es mayor al de éste estudio. Rangos de la referencia dos (6-18).

CUADRO 2. RESULTADOS DE NEUTRÓFILOS PARA CANINOS EN LA REGION LAGUNERA

NEUTRÓFILOS	(%)
MACHOS	(49.3-75.4)
HEMBRAS	(47.8-73.8)

En el cuadro de resultados para los neutrófilos segmentados es similar, el límite inferior se acerca más que el máximo para la referencia de Dill y Forbes (1947). Límites de literatura (54-91).

En la cuenta de segmentados el límite inferior observado fue menor al de la segunda referencia (Schalm, 1958) límites de literatura (60-77), y el máximo está también por debajo.

CUADRO 3. RESULTADOS DE LINFOCITOS PARA CANINOS EN LA REGION LAGUNERA

LINFOCITOS (%)	
MACHOS	(18.2-42.7)
HEMBRAS	(19.6-47.8)

Como se observa en el cuadro de los linfocitos el límite inferior de nosotros es mayor al igual que el máximo en comparación con la referencia de Dill y Forbes (1947), que es de (4.5-37).

Con respecto a (Schalm, 1958) en los linfocitos (12-30) los dos límites tanto inferior como mayor son más altos para los que se obtuvieron en éste estudio.

CUADRO 4. RESULTADOS DE MONOCITOS PARA CANINOS EN LA REGION LAGUNERA

MONOCITOS	(%)
MACHOS	(0-6.8)
HEMBRAS	(0-5.6)

Con respecto a los monocitos, Dill y Forbes (1947) reportan datos similares a los encontrados en éste análisis que se muestran en el cuadro superior. (0-7).

Mientras que si compara con (Schalm, 1958) ambos límites están por debajo. (3-10).

CUADRO 5. RESULTADOS DE EOSINÓFILOS PARA CANINOS DE LA REGION LAGUNERA

EOSINOFILOS (%)	
MACHOS	(0-7.9)
HEMBRAS	(0-4.7)

En la referencia de Dill y Forbes (1947) los eosinófilos está dentro del parámetro inferior pero el máximo es mayor. Límites (0-13).

Para los eosinófilos el límite máximo es menor para nosotros ya que para (Schalm, 1958) es de (0-10).

**CUADRO 6.RESULTADOS DE BASOFILOS PARA CANINOS DE LA REGION
LAGUNERA**

BASOFILOS (%)	
MACHOS	(0-2.2)
HEMBRAS	(0-1.97)

Por último en el cuadro de los basófilos se observa que no hay diferencia entre lo reportado y lo que se encontró.

6 Conclusión

Los resultados obtenidos conducen a pensar que probablemente debido a las condiciones regionales ambientales, enfermedades que prevalecen en nuestra región además de la alimentación y calidad del agua de local como del aire que se respira en la ciudad existe unaprobable diferencia en losparámetros hematológicos de las líneas celulares de la serie blanca. Para establecer si ésta diferencia es significativa, es necesario hacer un estudio estadístico de probabilidad, el cual se realizará más adelante. En dado caso será conveniente que los resultados futuros sean comparados con los parámetros de la región.

7 Literatura citada

- Aengwanich, W., C. Daungduen, S. Pamok y D. Suppasso. 2007. Blood cell characteristics and some hematological values of American Pit-bull Terriers in Thailand. *World Appl Sci J* 2(3): 158-162.
- Barger, A. M. 2003. The complete blood cell count: a powerful diagnostic tool. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice* 33(6): 1207-1222.
- Benjamin, M. M. 1984. *Manual de patología clínica en veterinaria*. México, DF, Limusa. 421 pp.
- Bossa-Miranda, M. A., V. Valencia-Celis, B. Carvajal-Giraldo y L. Ríos-Osorio. 2012. Valores de referencia del hemograma en perros sanos entre 1 y 6 años de edad, atendidos en el Hospital Veterinario-Universidad de Antioquia, 2002-2009. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 25(3): 409-416.
- Cowell, R. L., R. D. Tyler y R. H. Meinkoth. 1999. *Citología y hematología diagnóstica en el perro y el gato*. 2a ed. Multimédica, Barcelona, Esp. 338 pp.
- Dill, D. B. y W. H. Forbes. 1947. Blood gas transport. *Annual review of physiology* 9:357-380.
- Geffre, A., K. Friedrichs, K. Harr, D. Concordet, C. Trumel y J. P. Braun. 2009. Reference values: a review. *Veterinary clinical pathology / American Society for Veterinary Clinical Pathology* 38(3): 288-298.
- Krause, J. R. 1994. The automated white blood cell differential. A current perspective. *Hematology/oncology clinics of North America* 8(4): 605-616.
- Lynch, M. J., S. S. Raphael, L. D. Mellor, P. D. Spare y M. J. H. Inwood. 1987. *Métodos de laboratorio*. Editorial Interamericana, México, D.F.
- McPherson, R. A. y M. R. Pincus. 2011. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 22a ed. Saunders Elsevier, Philadelphia, Pa. pp.
- Meyer, D. J., J. W. Harvey y R. A. Taibo. 2000. *El laboratorio en medicina veterinaria: interpretación y diagnóstico*. Inter-Médica, Buenos Aires. 398 pp.
- Núñez-Ochoa, L. y J. Bouda. 2007. *Patología clínica veterinaria*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, México, D.F. 348 pp.
- Pedrozo, R., G. Quintana y A. Bazán. 2010. Valores hematológicos de referencia en caninos adultos aparentemente sanos, que concurren a una clínica privada de Asunción. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud* 8(2): 5-13.
- QueraltóCompañó, J. M. 1993. *Teoría de los valores de referencia*. Documentos de la Comisión de Valores de Referencia. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, Barcelona, Esp. 84 pp.

- Reagan, W. J., T. G. Sanders y D. B. DeNicola. 1999. Hematología veterinaria: Atlas de las especies domésticas comunes. Barcelona Editores, España. pp.
- Rebar, A. H. 2002. Manual de hematología de perros y gatos. Multimedica Ed. Vet., Barcelona, Esp. 278 pp.
- Ruiz Argüelles, G. J. 2009. Fundamentos de hematología. Ed. Médica Panamericana. 663 pp.
- Tvedten, H., R. Cowell, M. Willard, H. Tvedten y G. Turnwald. 2004. Citología de masas neoplásicas e inflamatorias. Diagnóstico clínico patológico práctico en los pequeños animales. 4a ed. Inter-Médica, Buenos Aires. 35 pp.
- Voigt, G. L. 2003. Conceptos y técnicas hematológicas para técnicos veterinarios. Acribia, Zaragoza, Esp. pp.