

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**CARACTERIZACIÓN DEL HEMOGRAMA EN OVINOS DE RAZA
CORRIEDALE ALIMENTADOS SOBRE CAMPO NATURAL**

Por

da ROSA ROSSI, Sebastián Andrés

TESIS DE GRADO presentada
como uno de los requisitos para
obtener el título de Doctor en
Ciencias Veterinarias
Orientación: Medicina Veterinaria

MODALIDAD: Ensayo experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2017**

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis aprobada por:

Presidente: _____
Dr. BENECH, Alejandro

Segundo miembro: _____
Dr. CAL PEREYRA, Luis

Tercer miembro: _____
Dra. RODRIGUEZ, Analía

Cuarto miembro: _____
Dr. MARTINO, Pedro

Fecha de aprobación: 02 junio 2017

Autor: _____
DA ROSA ROSSI, Sebastián Andrés

AGRADECIMIENTOS

Al tutor y amigo Dr. Luis Cal, por su ayuda y buena disposición que hicieron posible este trabajo.

A mi cotutor Dr. Pedro Martino por sus invaluable aportes al trabajo.

A mi compañera Cecilia y nuestro retoño Emilia que me han brindado la paciencia y sostén necesario para que termine esta etapa.

A mis padres -Cecilia y Cristóbal- que formaron gran parte de los que soy hoy, y me apoyaron siempre.

A mis hermanos -Verónica y Mathias- con los que siempre sé que puedo contar.

A los "Tesisistas" -Hugo, Payque, Alejandro, Sofia S, Sofía P, Stella y Luis N- que me han acompañado en el trayecto.

A Matilde, Edgardo y mis compañeros de La Lucana, por brindarme la flexibilidad en el trabajo para poder realizar esta tesis.

A mi compadre Dr. Esteban Pérez con el que hemos protagonizado varias anécdotas y espero que sigamos sumando más.

A todos quienes no nombré y me acompañaron en el camino, a los que se sumaron y los que ya no están. En esta carrera que llevé a paso de caminata porque me encanta observar el paisaje.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE FIGURAS	6
LISTA DE CUADROS	7
1- RESUMEN.....	8
2- SUMMARY	9
3- INTRODUCCIÓN	10
4- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	12
4.1 Ovinos.....	12
4.2 Historia de la raza Corriedale (NZSBA, 2016).	12
4.3 Descripción de la raza.....	13
4.3.1 Standard de la raza Corriedale (SCCU, 1938).	13
4.4 La sangre	14
4.5 Extracción y manipulación de la sangre.....	15
4.6 Frotis de sangre	16
4.6.1 Técnica de frotis.....	16
4.6.2 Análisis de los frotis de sangre.....	17
4.6.2.1 Plaquetas.	18
4.6.2.2 Eritrocitos	18
4.6.2.3 Recuento diferencial leucocitario.	18
4.6.2 Pruebas hematológicas de rutina (por métodos manuales).....	20
4.6.2.1 Volumen celular aglomerado (VCA)/ Hematocrito (Hto).....	20
4.6.2.2 Determinación de la hemoglobina (Hb).....	20
4.6.2.3 Técnicas de recuento manual.....	21
4.6.3 Índices Eritrocitarios.....	22
4.6.3.1 VCM (Volumen corpuscular medio)	22
4.6.3.2 CHCM (Concentración de hemoglobina corpuscular media)	22
4.6.3.3 HCM (hemoglobina corpuscular media).....	22
4.7 Contadores Automatizados para Hematología –Contadores de impedancia	23
5- OBJETIVOS.....	24
5.1 Objetivo general.	24
5.2 Objetivos específicos.	24
6- MATERIALES Y MÉTODOS.....	25

6.1 Animales.....	25
6.2 Determinaciones	26
6.3 Análisis de las muestras	26
6.4 Análisis estadístico	26
7- RESULTADOS	27
8- DISCUSIÓN.....	35
9- CONCLUSIONES	37
BIBLIOGRAFIA.....	38

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura I: Glóbulos Rojos	29
Figura II: Valor de Hemoglobina	30
Figura III: Valor de Hematocrito	31
Figura IV: Volumen Corpuscular Medio	32
Figura V: Hemoglobina Corpuscular Media	33
Figura VI: Concentracion de Hemoglobina Corpuscular Media	33
Figura VII: Glóbulos Blancos	34
Figura VIII: Plaquetas	35

LISTA DE CUADROS

	Página
Tabla 1: Test de Reducción	25
Tabla 2: Metabolitos Séricos	27
Tabla 3: Resultados del Hemograma	28
Tabla 4: Recuento leucocitario (valores relativos)	28
Tabla 5: Recuento leucocitario (valores absolutos)	29

1- RESUMEN

Uruguay es uno de los principales exportadores a nivel mundial de lana y carne ovina. El rebaño ovino en nuestro país está compuesto principalmente por la raza Corriedale. El muestreo de sangre es una poderosa herramienta de diagnóstico para identificar las respuestas fisiológicas de un animal, ya que puede revelar importante información sobre su salud, bienestar y estado nutricional. El “Hemograma” es un perfil de pruebas, de los elementos que componen la sangre. Este se compone de datos cuantitativos y cualitativos. A través de la caracterización del hemograma, esta tesis de grado pretendió contribuir al estudio de valores hemáticos en ovinos clínicamente sanos, de raza Corriedale, criadas en un sistema extensivo sobre pastura natural. Se tomaron muestras de 12 ovejas adultas vacías y 15 gestando, 15 corderos, 15 borregas y 4 carneros. En todas las categorías se seleccionaron animales clínicamente sanos y con un peso homogéneo. A cada animal se le realizaron tres extracciones de sangre con un intervalo de 30 días entre cada una. Se realizó una caracterización de los valores que presentan las variables hematológicas básicas (GR, Hgb y Hto), los índices eritrocitarios (VCM, HCM y CHCM), los globulos blancos y la distribución relativa de los mismos, así como de las plaquetas para las diferentes categorías de ovinos. Las ovejas preñadas presentaron un menor valor de GR, Hgb y Hto que el resto de las categorías. Los GR de las categorías menores (corderos y borregas) presentaron un menor VCM y HCM. Los corderos presentaron un mayor número de GB y Plaquetas que el resto de las categorías ovinas.

2- SUMMARY

Uruguay is one of the world leading exporters of sheep wool and meat. The sheep herd in our country is composed mainly of Corriedale breed. Blood sampling is a powerful diagnostic tool to identify the physiological responses of an animal as it can reveal important information about their health, well-being and nutritional status. The haemogram (cell blood count -CBC-) is a test profile of the elements that make up the blood. It is composed of quantitative and qualitative data. Through the characterization of the CBC, this thesis was intended to contribute to the study of blood values in clinically healthy, Corriedale sheep, reared in an extensive system on natural pasture. Samples were taken from 12 empty adult ewes and 15 who were gestating, 15 lambs, 15 hoggets and 4 rams. Clinically healthy animals with a homogeneous weight were selected in all categories. Three blood samples were taken from each animal every 30 days. A characterization of the values that showed the basic hematological variables (RBC, HGB and PCV), erythrocyte indexes (MCV, MCH and MCHC), white blood cells and their relative distribution, as well as platelets for the different categories of sheep. Pregnant ewes presented a lower value of RBC, HGB and PCV than the rest of the categories. The RBC of the young categories (lambs and hoggets) presented lower MCV and MCH. Lambs presented a greater number of WBC and Platelets than the others ovine categories.

3- INTRODUCCIÓN

Antecedentes y fundamentación

Uno de los pilares del desarrollo económico de Uruguay ha sido y es, la excelente dotación de recursos naturales para la producción agropecuaria en casi todo el territorio nacional. Esta, brinda ventajas comparativas que hacen que esta actividad tenga una importancia central en la economía y en la sociedad (Martino, y col, 2008).

Nuestro país ocupa lugares de privilegio a nivel mundial en la exportación de lana y carne ovina. Ocupa el sexto lugar en los mercados laneros más exigentes a través de la lana lavada y peinada (tops) y séptimo como país exportador de lana lavada y Lana sin cardar ni peinar. En cuanto a la carne se sitúa como el cuarto exportador en el mundo, de carne ovina congelada con hueso (datos extraídos de <http://www.trademap.org>).

Para la lana, se espera que se mantenga la oferta y demanda internacional en los bajos niveles actuales, lo que permite pensar que los precios se mantendrán estables y deprimidos. Por otro lado, la carne ovina se enfrenta a una demanda creciente con precios altos y en ascenso. Estos dos efectos opuestos hacen que se espere que se mantenga estable el stock de ovinos a nivel mundial (Uruguay XXI, 2015).

Dentro de la estructura exportadora del país, la producción ovina constituye una porción muy importante. Es así que Durante el último año móvil ingresaron a Uruguay un total de 265 millones de dólares por concepto de exportaciones de los productos que componen el Rubro Ovino. (SUL, 2015) Es por esto que constituye una fuente de trabajo a través de toda la cadena comercial, lo cual implica inversiones en diferentes puntos del país favoreciendo, entre otras cosas, la radicación de personas en el medio rural. El Uruguay posee algo más de 2700 establecimientos, que dedican sus actividades exclusivamente al rubro ovino, extendiéndose sobre 822.400 há, del territorio nacional (INE, 2014)

Tradicionalmente la producción ovina en Uruguay siempre ha tenido una distribución territorial caracterizada por una mayor concentración de cabezas ovinas en las regiones de suelo de menor aptitud pastoril (Salgado, 2004). El stock ovino se sitúa actualmente en 6.4 millones de cabezas (MGAP-OPYPA 2016).

El rebaño ovino en el Uruguay está compuesto principalmente por la raza Corriedale, un animal denominado “doble propósito” dadas sus aptitudes para destinar su producción a carne o lana. Es un animal rústico con adaptación al pastoreo extensivo, en cuanto al clima, se adapta al templado, templado frío, semiárido o subhúmedo.

Si bien en la producción ovina se realiza una medicina poblacional, y la aplicación de un estudio de laboratorio podría ser cuestionada, una buena práctica en la medicina veterinaria podría ser el realizar un perfil en una muestra aleatoria de la población, para enriquecer el diagnóstico. Además de que algunos ámbitos como animales de pedigree, de experimentación, o mascotas, su uso sería más que el indicado.

El muestreo de sangre es una poderosa herramienta de diagnóstico para identificar las respuestas fisiológicas de un animal, ya que puede revelar importante información sobre su salud, bienestar y estado nutricional (Šoch, y col, 2011). La sangre baña a todas las demás células del organismo, transportando nutrientes, oxígeno y productos de deshecho (Voigt, 2003). El estudio de las variables hematológicas y de sus desviaciones permite conocer las anomalías que pueden afectar a los órganos. (Couto Hack, 2010) El Hemograma es, debido a la facilidad con la que se obtiene la sangre, bajo costo y variedad de datos que aporta, uno de los análisis colaterales más difundidos, a la hora de requerir ayuda diagnóstica de un laboratorio.

El "Hemograma" es un perfil de pruebas, de los elementos que componen la sangre, (Willard, y col, 2004). Este se compone de datos cuantitativos (total de células, conteo diferencial de células, índices eritrocitarios, etc.), y cualitativos (morfología de las células sanguíneas). La interpretación adecuada depende de la integración de ambos (Rebar, y col, 2015)

En Byers y Kramer (2010) son citados los valores hematológicos de diferentes especies animales. Sin embargo, en nuestro país no se han reportado o publicado valores para el hemograma de los ovinos en nuestras condiciones de cría; utilizándose en la práctica como referencia valores tomados de la bibliografía internacional. Esta a su vez, recomienda establecer para cada región, valores de referencia, e inclusive adecuarlas a cada laboratorio, además de hacer una agrupación de las distintas especies por edad, sexo y raza.

A través de la caracterización del hemograma, esta tesis de grado pretende contribuir al estudio de valores hemáticos en ovinos clínicamente sanos, de raza Corriedale, criadas en un sistema extensivo sobre pastura natural. Pretende además aportar datos nacionales, ya que solo se encuentran datos de referencia de otras partes del mundo.

4- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1 Ovinos

La oveja fue sin duda uno de los primeros animales domesticados por el hombre debido a la gran variedad de productos que proporciona y que ha dado lugar, a que en la actualidad sea considerada como un animal de renta. Ello viene dado por las producciones que de ella se obtienen: carne, leche y sus derivados, y lana (Prieto y García Partida, 1999; González Montaña y col, 1997).

El ganado ovino se encuentra dentro de la familia Bovidae, subfamilia Ovinae, género Ovis, especie Ovis aries (Vigil, 1985).

La oveja no solamente es importante por los beneficios que obtenemos de sus producciones clásicas, sino que es también un animal utilizado en procesos experimentales (González Montaña y col, 1997; García Partida y col, 1998; Prieto y García Partida, 1999) en sus más variadas modalidades, considerándola como un “animal de experimentación”. Debemos recordar que se entiende por “animal de experimentación todo vertebrado vivo, no humano, utilizado con fines de investigación científica” (González Montaña y col, 1997; Prieto y García Partida, 1999).

4.2 Historia de la raza Corriedale (NZSBA, 2016).

La raza Corriedale comenzó a desarrollarse en Nueva Zelanda, a partir de que el comercio de exportación de carne se tornara, tan importante, como el de la lana; debido al desarrollo de métodos de refrigeración en el transporte. El cruzamiento de ovinos de raza Merino, con muy buena calidad de lana, aunque de mechas cortas, con animales más robustos como los Romney marsh, con buen rendimiento de canal y largo de mecha, pero muy pobres en lo relacionado a calidad de la lana; dio lugar al desarrollo del primer prototipo de la raza, aunque no definitivo, y que con el correr del tiempo o el que luego fue desapareciendo. James Little, ovejero escocés, que llegó al territorio neozelandés en 1863, trabajó con la primera generación de Merino-Romney, y luego, utilizando los métodos adecuados, formó definitivamente la raza cruzando ovinos Merino, con otra raza rustica como la Lincoln.

La raza quedó definida como tal en 1911. Antes, en 1903 habían sido inscritas en la asociación de criadores de ovejas de Nueva Zelanda como “cruzas endogámicas”. En 1924 la asociación de criadores Corriedale, la cual había sido creada en 1910, publicó su primer libro de registro genealógico, con un

detalle de 87 rebaños. Para entonces, la raza fue aceptada en Sudamérica, Norteamérica, y Australia, con considerable éxito (NZSBA, 2016).

En el comienzo, la selección rigurosa, descartando un elevado porcentaje de ejemplares, fue la labor principal que permitió asegurar la uniformidad. (SUL, 1986).

Desde su creación, la raza Corriedale logró un importante lugar en su país de origen, además de extenderse por varias regiones, satisfaciendo los objetivos que los productores se habían fijado al crearla, lo cual le permitió diseminarse rápidamente por todas partes del mundo. Además de Nueva Zelanda, y en menor proporción en Australia y Gran Bretaña, la raza Corriedale se puede encontrar en toda América, siendo Estados Unidos, Chile, Argentina y Uruguay, los países donde se concentra la mayor cantidad de existencias (NZSBA, 2016).

En 1916 fue introducida al Uruguay. Desde entonces, en base a sus virtudes y su extraordinaria adaptación a nuestro medio, la raza fue creciendo a paso firme hasta constituirse en la principal raza ovina del país (SCCU, 1938).

4.3 Descripción de la raza.

La raza Corriedale es un ovino de doble aptitud, carne y lana, que se adapta muy bien a las condiciones extensivas y semiintensivas, ya que es capaz de aprovechar la pradera natural pobre en cantidad y calidad alimentaria, y que resiste en buena forma las condiciones climáticas desfavorables de invierno y comienzos de primavera. La lana es de grosor medio (27 a 28,5 μm en las ovejas), con vellones de 4,8 kg de promedio. En general, debe tener buena alzada, ni muy alto ni muy bajo, y desarrollo corporal armónico. Cara descubierta, con lana sólo hasta la altura de los ojos, sin cuernos y pezuñas preferentemente negras. El vellón es de buen peso, con adecuado largo de mecha, grosor y densidad. No se acepta la lana tipo pelo, negra o marrón u otro color que no sea el característico (García, 2000).

El éxito y popularidad de esta raza se debe, aparte de ser productor de corderos precoces y capones de peso mediano, unido a un vellón pesado y de buena aceptación comercial, al hecho de poseer rusticidad y condiciones de adaptación a las características naturales de los campos de pastoreo (SUL, 1986).

4.3.1 Standard de la raza Corriedale (SCCU, 1938).

Aspecto general y conformación: el corriedale es un ovino de doble propósito: carne y lana. Ambos fines tienen igual importancia.

Su aspecto general es el de un animal rustico, de buen tamaño, formas equilibradas y líneas bajas.

Cabeza: Ancha, corta, fuerte y sin cuernos.

Las orejas son fuertes, de mediana longitud, bien emplazadas y cóncavas hacia delante. Las orejas desprovistas de pelo o con excesiva población de lana, son defectuosas. Es también defectuosa la oreja con manchas marrones, pero no así, la que tenga manchas negras o azuladas.

La piel de la cara y alrededor de los ojos debe estar densamente cubierta de pelo blanco sin manchas ni sombras marrones, violáceas, azules o negras.

El corriedale deberá tener la vista libre a través de un canal libre de lana, o solo cubierto por lanilla, a lo largo de la nariz.

El cráneo y la nuca estarán cubiertos de lana de buena calidad, libre de "kemps", formando un copete ancho y saliente, que no invadirá más allá de la media distancia entre los ojos y la nariz. Trompa ancha, fosas nasales bien abiertas y negras, siendo preferible el tono negro uniforme.

Cuello y paletas: el tren anterior deberá ser amplio, el cuello, corto y musculoso, sosteniendo la cabeza erguida. Las paletas anchas y profundas, manos bien separadas y verticales. El cuello hundido delante de las paletas, es un defecto.

Lomo y costillas: lomo horizontal derecho y ancho. Costillas profundas y bien arqueadas, sin caída o faja detrás de las paletas.

Cuartos: anchos y hondos; buena separación entre las patas; garrón corto y fuerte.

Aplomos: extremidades de buen hueso, poca longitud y aplomos verticales. Patas cubiertas con lana libre de "kemps" hasta las pezuñas. Las manos peladas constituyen un defecto. Pezuñas negras o con estrías negras. Son defectos las manchas y sombras negras o marrones, aunque solo afecten la piel.

Lana: el vellón deberá ser voluminoso y su cualidad esencial será la uniformidad en densidad, longitud y finura. La lana deberá ser vigorosa, de carácter, rizada, suave al tacto y de brillo sedoso. La lana de barriga, dentro de su aspecto característico, tendrá densidad, longitud, rizo y suavidad, pero deberá estar rigurosamente circunscripta a su región.

La finura deseada es la P.B.1 (56-58) en las hembras y 1-2 (52-56) en los machos. La mecha mínima será en todos los casos de 10 centímetros.

4.4 La sangre

La sangre es un tejido conjuntivo líquido que circula a través del sistema cardiovascular. Se compone de células y un líquido con proteínas abundantes y minerales llamado plasma, el cual es el material extracelular líquido que le

imparte a la sangre su fluidez (Ross y col, 2013). La parte celular está compuesta por eritrocitos (GR), leucocitos (GB) y plaquetas. En las aves, reptiles anfibios y peces, todas las células poseen núcleo, y las plaquetas son llamadas trombocitos. En los mamíferos solo los leucocitos poseen núcleo; las hemáticas los pierden durante su formación, y las plaquetas son fragmentos de citoplasma de su célula progenitora, los megacariocitos. (dos Anjos, y col, 2007).

El estudio de la sangre es un procedimiento muy común y necesario por varias razones. La sangre baña todas las demás células del organismo, transportando nutrientes, oxígeno, y productos de desecho, quedando expuestas a casi todos los procesos metabólicos de dichas células. La hematología es una de las múltiples especialidades de la patología clínica. La aplicación más común del laboratorio de hematología es monitorizar la salud general de un animal, evaluar su capacidad general para transportar oxígeno y defenderse contra los agentes infecciosos. Combinadas con el historial, la exploración física, y otros resultados de laboratorio, ayudan a elaborar un diagnóstico (Voigt, 2003).

El “Hemograma” es un perfil de pruebas de los elementos que componen la sangre (Willard, y col, 2004). Este se compone de datos cuantitativos (total de células, conteo diferencial de células, índices eritrocitarios, etc.) y cualitativos (morfología de las células sanguíneas). La interpretación adecuada depende de la integración de ambos (Rebar, y col, 2015).

El Hemograma debe ser evaluado de manera sistemática. El primer paso consiste en identificar los resultados de una prueba anormal y utilizar los términos adecuados para describir las anomalías. Los adjetivos tales como leve, moderado o marcado reflejan la magnitud del cambio, un dato importante para la interpretación. Las variaciones menores se deben interpretar con cautela. El segundo paso en la evaluación de los resultados anormales es agrupar ciertos conjuntos de datos. El tercer paso consiste en sacar conclusiones a partir del conjunto de resultados (Willard, y col, 2004).

4.5 Extracción y manipulación de la sangre

Todos los análisis de sangre comienzan con una correcta obtención de la muestra. El recuento de células requiere usar sangre anticoagulada. Cualquier coágulo visible en una muestra elimina la confiabilidad de los recuentos de células, ya que impide la distribución uniforme de las células en la sangre. Además, los coágulos pueden obstruir los instrumentos de recuento celular. (Willard, y col, 2004).

La obtención y manipulación descuidada o incorrecta de la muestra de sangre puede dañar las membranas celulares, causando una hemólisis de los GR y

una ruptura y deformación de los GB, que hará la muestra indescifrable. (Voigt, 2003).

Siempre que la sangre se encuentre con una sustancia que no sea el endotelio vascular comenzará a coagular. Necesitamos entonces prevenir este hecho fisiológico para que las células queden en suspensión. Esto se consigue mediante la adición de un anticoagulante (Voigt, 2003). El anticoagulante de elección para hacer el perfil hematológico es el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) porque conserva la morfología celular. El citrato sódico se usa para cualquier test relacionado con los tiempos o factores de coagulación; ambos previenen la coagulación formando complejos con el calcio. (Day y col, 2012). La heparina produce una mala coloración con fondo azul difuso. Si la sangre en EDTA no se analiza dentro de 2 a 3 horas, se la debe refrigerar a 4°C, ya que los GR se hinchan después de 6-24 horas de almacenamiento. El hemograma tiene cambios mínimos en sangre refrigerada hasta 24 horas (Willard y col, 2004).

El plasma representa aproximadamente el 55% del volumen total de sangre. El plasma es aislado cuando se colecta sangre con anticoagulante (EDTA, heparina o citrato) y se centrifuga la muestra para sedimentar las células. Cuando se colecta sangre sin anticoagulante y esta coagula, el líquido sobrenadante es el suero. Este contiene la mayoría de los elementos del plasma a no ser por ciertos factores de la coagulación y fibrinógeno (Barger y col, 2015).

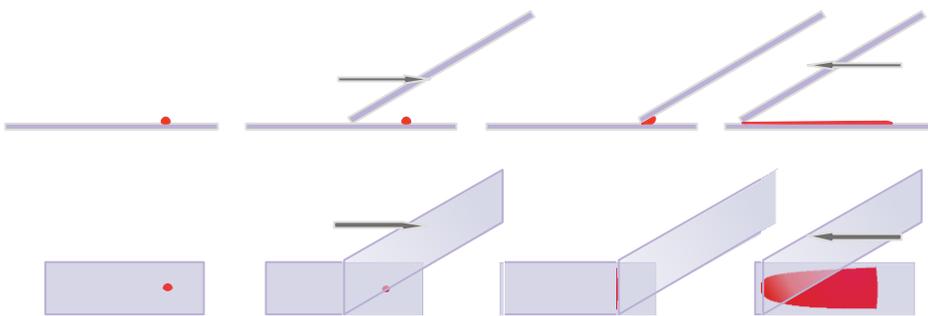
4.6 Frotis de sangre

El estudio de un frotis de sangre periférica puede proporcionar más información que cualquier otra prueba de laboratorio (Voigt, 2003). Deben prepararse de manera inmediata y secar al aire para evitar los artefactos causados por la exposición de las células a los anticoagulantes y su deterioro durante el almacenamiento y transporte. Los frotis deben tener un área delgada donde las células se distribuyan en una monocapa. Esta superficie proporciona detalles morfológicos óptimos y una distribución celular razonable (Willard y col, 2004). Los mejores frotis se realizan a partir de sangre fresca sin anticoagulantes (Voigt, 2003).

4.6.1 Técnica de frotis

Para realizar un frotis de calidad, el portaobjetos debe estar limpio y seco, y no tener sobre su superficie partículas extrañas ni la película protectora, tampoco pueden presentar grietas y corrosiones. Si se utilizan portaobjetos nuevos cada vez se obtendrán mejores resultados. Es recomendable sumergir el portaobjetos en alcohol y limpiarlo con un paño o papel antes de utilizarlo. Colocar el portaobjetos sobre una superficie plana, sobre este se deposita una

gota de sangre, cerca de uno de los extremos. El tamaño de la gota es importante para el grosor final del frotis, y se aprende con la experiencia. Inmediatamente luego de colocar la gota, se toma un segundo portaobjetos (al que se le denomina difusor) por los bordes, y colocado sobre el primero se arrastra hasta que toque la gota de sangre, en un ángulo de aproximado 30°. Cuando la sangre se haya extendido sobre, aproximadamente tres cuartos de la superficie del primer portaobjetos, moveremos el difusor rápidamente en la dirección opuesta, por lo que la gota de sangre se irá extendiendo detrás de él en el ángulo formado por ambos portaobjetos. El difusor deberá permanecer plano sobre la superficie del primer portaobjetos y con una presión uniforme que permita un contacto continuo (Voigt, 2003).



La forma, grosor y longitud del frotis se ven influidas por: el tamaño de la gota de sangre, el ángulo con el que se sostiene el difusor y la velocidad con la que se difunde la gota (Voigt, 2003).

El portaobjetos deberá secarse rápidamente al aire para evitar alteraciones osmóticas en las células; el secado puede acelerarse agitando la lámina suavemente (Voigt, 2003).

Las células se identifican más fácilmente si han sido teñidas con colorantes. Para la sangre, frotis y muestras citológicas, las tinciones de tipo Romanowsky son las más utilizadas (Barger y col, 2015).

Las tinciones del tipo Romanowski se fijan en metanol antes de la tinción con un colorante catiónico y un colorante aniónico. Esta etapa de fijación permite a los colorantes penetrar en la membrana celular y unirse a estructuras intracelulares. Los colorantes catiónicos tiñen estructuras celulares ácidas (tales como los materiales nucleares y proteínas ácidas) un color azul-púrpura. Las estructuras celulares básicas, incluyendo la mayoría de las proteínas celulares, se unen el colorante aniónico y tiñen de rojo (Barger y col, 2015).

4.6.2 Análisis de los frotis de sangre.

La evaluación de un frotis de sangre para un observador con experiencia es una fuente rápida de información abundante (Willard y col, 2004). Debe ser

preparado para cada hemograma como forma de verificar los conteos manuales o automáticos de células y determinar su morfología (Barger y col, 2015).

4.6.2.1 *Plaquetas.*

Se debe comprobar si hay agregación plaquetaria. Si las plaquetas están agrupadas, no tienen distribución uniforme, de modo que su estimación y su recuento no serán exactos (Willard y col, 2004).

4.6.2.2 *Eritrocitos*

Los GR son el tipo de células predominantes en la sangre (Barger y col, 2015). En los frotis de sangre de animales con VCA normal, el área de la monocapa es una zona elíptica pequeña a moderada inmediatamente por detrás del borde festoneado del extendido. En los frotis de sangre muy anémica, el área de monocapa se extiende más hacia atrás, incluso hasta donde se aplicó la gota de sangre. En sangre hemoconcentrada, la superficie de la monocapa es pequeña o ausente (Willard y col, 2004).

El eritrocito maduro típico de los mamíferos es una célula pequeña, bicóncava, eosinofílica y carente de núcleo. Ellos contienen una gran cantidad de Hb que contribuye a su coloración rojiza (Barger y col, 2015). Los GR ovinos son de los más pequeños entre los mamíferos y no tienden a agregarse o deformarse tanto como los eritrocitos de otras especies; y en la mayoría de las razas poseen forma discoide (Weiss y Wardrop, 2010). La membrana celular del eritrocito es flexible, permitiendo a la célula alterar su morfología al atravesar pequeños capilares, pero no es muy elástica, teniendo poca capacidad para estirarse. En soluciones hipertónicas los eritrocitos perderán fluidos internos y se contraerán (crenación), pero en soluciones hipotónicas se agrandarán ligeramente antes de romperse la membrana celular (hemólisis) (Voigt, 2003).

4.6.2.3 *Recuento diferencial leucocitario.*

El conteo diferencial de GB es muy útil para monitorizar estados inflamatorios en ovinos, y se utilizan en las investigaciones realizadas con esta especie (Weiss & Wardrop, 2010). Se debe realizar un recuento diferencial (relativo), contando y clasificando al menos 100 leucocitos. Contar 200 células o más, y transformar los resultados en porcentajes hará que el examen resulte más preciso, especialmente en muestras con un elevado número de glóbulos blancos (Voigt, 2003). Este se multiplica por el recuento total de GB/ul para obtener el recuento absoluto de cada tipo. (Willard y col, 2004). Lo que es importante es el número absoluto de cada tipo de leucocito. Los valores relativos (porcentajes) pueden producir confusiones cuando el recuento total de GB es anormal (Meyer y col, 2007).

Al realizar el recuento de una pequeña muestra del total de células, la distribución al azar de las mismas provocará siempre variaciones estadísticas. Es decir si uno o más observadores realizan sus recuentos en distintas áreas del frotis, generalmente no obtendrán los mismos resultados. La diferencia entre recuentos será menor cuanto más células se incluyan en estos.

Como la función esencial de este examen es la identificación y enumeración de los tipos de células, el técnico debería evitar las zonas donde las células se superpongan, estén dispuestas en más de una única capa, se encuentren deformadas por células adyacentes, o algunas partes del frotis (como la porción más estrecha y tenue del final). Conforme se realiza el frotis, los leucocitos tienden a moverse hacia los bordes y hacia el final, principalmente debido a la diferencia de tamaño entre estos y los eritrocitos. A una célula deteriorada o degenerada se la denominará "manchada" y no se incluirá en el recuento (Voigt, 2003).

Los neutrófilos, eosinófilos y basófilos son subtipos de granulocitos. Ya maduros en la sangre periférica, poseen un núcleo segmentado y un citoplasma ligeramente basófilo. Los gránulos de los neutrófilos no se colorean con las tinciones del tipo Romanowsky. Los eosinófilos poseen gránulos que se tiñen de rosa oscuro, son numerosos, pequeños y redondeados. Los basófilos son vistos raramente en la sangre periférica de animales sanos, tienen algún gránulo purpura en el citoplasma (Barger y col, 2015).

Los monocitos son células del sistema fagocítico, más grandes que los neutrófilos segmentados, con un citoplasma azul-grisáceo y un núcleo redondeado. Pueden contener alguna vacuola en el citoplasma. (Barger y col, 2015).

Los linfocitos son más pequeños que un neutrófilo con un núcleo redondeado con cromatina densa, y un citoplasma intensamente basofílico. Se dividen en linfocitos T y B, que pueden ser diferenciados por inmunohistoquímica (Barger y col, 2015).

Los contadores diferenciales de leucocitos automáticos, se basan en diferencias de tamaño celular y reacciones citoquímicas. El análisis es más rápido, y en la mayoría de los casos los resultados son favorablemente comparables a los de los métodos manuales. Ninguno de los aparatos automatizados identifica todos los tipos celulares en todas las especies. No identifican de manera uniforme los neutrófilos inmaduros, los cambios tóxicos en los neutrófilos, linfocitos y monocitos reactivos, basófilos eosinófilos grises y células leucémicas (Willard y col, 2004).

Incluso con el uso de métodos de recuento automáticos, examinar el frotis para observar subjetivamente posibles alteraciones celulares, seguirá siendo una práctica útil y necesaria (Voigt, 2003).

4.6.2 Pruebas hematológicas de rutina (por métodos manuales)

4.6.2.1 Volumen celular aglomerado (VCA)/ Hematocrito (Hto)

El método de Hto se usa para determinación del VCA, se usa en forma sistemática para estimar la masa eritroide. El examen macroscópico de plasma en el tubo de Hto puede detectar ictericia, hemólisis o lipemia. Se utiliza sangre anticoagulada o se usan tubos heparinizados, y se llenan hasta las 2/3 – 3/4 partes. Después de la centrifugación los GR se aglomeran en el fondo y los GB y plaquetas en una delgada línea blanca (capa flogística) entre los GR y el plasma. Para calcular el VCA, la longitud de los GR aglomerados se divide por el total de los GR aglomerados, capa flogística y plasma (Willard y col, 2004). Si se centrifugan muestras durante 5 minutos a 10.000 – 12.000 RPM o durante 3 minutos a 15.000 – 16.000 RPM, se conseguirá generalmente la total separación y aglomeración de las células. Para los rumiantes se doblará el tiempo de centrifugado, principalmente en ovinos y cabras, ya que el menor tamaño de los eritrocitos ralentiza la velocidad de sedimentación. Los analizadores de sangre electrónicos miden el VCA combinando el volumen medio de glóbulos rojos, medido electrónicamente, y el recuento total de los mismos (Voigt, 2003).

Los errores en la determinación del Hto se relacionan con la centrifugación. Las centrifugas para Hto alcanzan altas velocidades (11.500 – 15.000 RPM) lo cual asegura la fuerza centrífuga adecuada para lograr la aglomeración celular (Willard y col, 2004). Centrifugar durante más tiempo del recomendado no daña la muestra ni afecta los resultados, pero si se hace durante menos tiempo del recomendado puede llevarnos a conclusiones altamente erróneas. (Voigt, 2003).

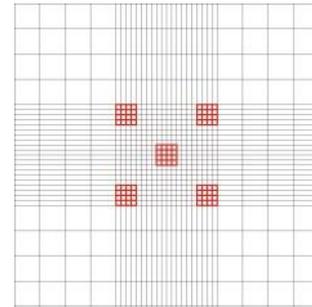
4.6.2.2 Determinación de la hemoglobina (Hb)

La hemoglobina es la proteína molecular de los glóbulos rojos, responsable del transporte de oxígeno desde los lechos capilares de los pulmones hasta los tejidos del organismo (Voigt, 2003). La Hb se obtiene como parte del Hemograma con los instrumentos hematológicos automatizados, por métodos fotométricos a partir de los eritrocitos lisados. La Hb puede ser un parámetro más exacto que el VCA si las células se encuentran contraídas, edematizadas o tienen un aumento de la fragilidad. La Hb es inexacta si la lipemia interfiere con la transmisión de la luz a través del plasma durante el enlace fotométrico. Un número elevado de cuerpos de Heinz puede producir un aumento erróneo

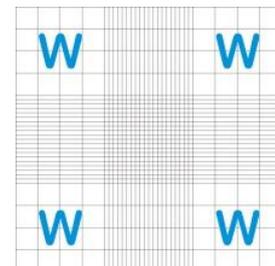
en la densidad óptica, que produce un incremento artificial en la concentración de Hb (Willard y col, 2004).

4.6.2.3 Técnicas de recuento manual

El recuento manual de células requiere la utilización de muestras muy pequeñas, junto con técnicas muy precisas de dilución y un instrumental calibrado para ello, la cámara de Neubauer. El recuento se realiza sobre diferentes áreas de la retícula de la cámara de Neubauer, y luego se multiplican acorde a la dilución que se haya hecho (para contar GR 1:200, y para GB 1:20). Luego de cargar la cámara de Neubauer se debe permitir que las células se asienten para contarlas, examinar con un mínimo aumento buscando burbujas e irregularidades que alterarían el recuento.



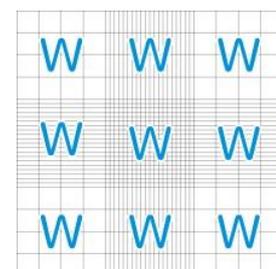
Los GR deben contarse en el cuadrado central, en cinco grupos de 16 casillas, no consecutivos, utilizándose generalmente, las cuatro esquinas y el centro. Dentro de cada grupo se debe proceder de forma ordenada para evitar saltarse células o contar otras dos veces, se comienza por la esquina superior izquierda y se procede en zigzag, se cuentan las células dentro del cuadrado y las que están en contacto con los bordes superior e izquierdo (ya esté la mayoría de la célula en el interior o en el exterior de la casilla). Cualquier gran variación entre áreas, respecto al número de células (diferencia de más de 25 células entre áreas), deberá volver a cargarse la cámara. Para indicar el número de Eritrocitos presentes en la muestra de sangre original, deben considerarse los factores de dilución y el tamaño de las cámaras, además del recuento de células realizado (Voigt, 2003).



$GR/mm^3 = N^{\circ} \text{ de células} \times N^{\circ} \text{ de cuadrados} \times \text{profundidad de la cámara} \times \text{dilución}$

$GR/mm^3 = N^{\circ} \text{ de células} \times (5 \times 10 \times 200)$

Simplemente añadiendo cuatro ceros al recuento daremos con la respuesta correcta, pero en casos de anemia severa o hemoconcentración pueden utilizarse distintas diluciones o distinto número de áreas de recuento, lo que alterarían el multiplicador (Voigt, 2003).



En el caso de los Leucocitos, si se ha hecho una dilución 1:20 se efectúa el recuento en los cuatro cuadrados grandes de las esquinas, si la dilución es de 1:100 el recuento se hace en los nueve cuadrados. El recuento se realiza de la misma manera, y utilizando el mismo criterio que en el

recuento de GR. El cómputo de los resultados obtenidos variara según las técnicas de dilución y de recuento empleadas. (Voigt, 2003).

Con la dilución 1:20 → $GB/mm^3 = N^{\circ} \text{ de células} \times \frac{(10 \times 20)}{4}$

Con la dilución 1:100 → $GB/mm^3 = N^{\circ} \text{ de células} \times \frac{(10 \times 100)}{9}$

4.6.3 Índices Eritrocitarios

Los índices eritrocitarios describen el tamaño y el contenido de hemoglobina promedio de los GR. Los índices pueden calcularse a partir de VCA, recuento de GR y Hb, mediante ecuaciones; aunque los contadores automáticos miden de forma directa el volumen celular o la concentración de hemoglobina (Voigt, 2003).

4.6.3.1 VCM (*Volumen corpuscular medio*)

Es una medida del tamaño eritrocitario y representa el volumen de un solo eritrocito. Se expresa en femtolitros (fl), que son micrómetros cúbicos 1fl = 10-15 litros (Voigt, 2003).

$$VCM = VCA \times \frac{10}{GR(10^6)}$$

El VCM indica si un eritrocito es macrocítico, normocítico o microcítico (Voigt, 2003).

4.6.3.2 CHCM (*Concentración de hemoglobina corpuscular media*)

Es una medida de la concentración de Hb en los eritrocitos. Indica el peso de la hemoglobina (en gramos) en un decilitro (100ml) de eritrocitos y no en un dl de sangre entera. Se expresa en gr/dl, puede verse también como porcentaje (Voigt, 2003).

$$CHCM = Hb \times \frac{100}{VCA}$$

Una CHCM define a los eritrocitos como normocrómicos o hipocrómicos. Los GR hiperocrómicos (CHCM aumentada) indican error en la muestra o en el laboratorio (Voigt, 2003).

4.6.3.3 HCM (*hemoglobina corpuscular media*)

Este índice es poco utilizado. También indica el contenido en hemoglobina de los eritrocitos (siendo el peso de Hb en un eritrocito medio), pero es menos preciso que la CHCM ya que se calcula a partir de dos determinaciones menos precisas, el recuento de GR y la Hb. Se expresa en picogramos (pg.).

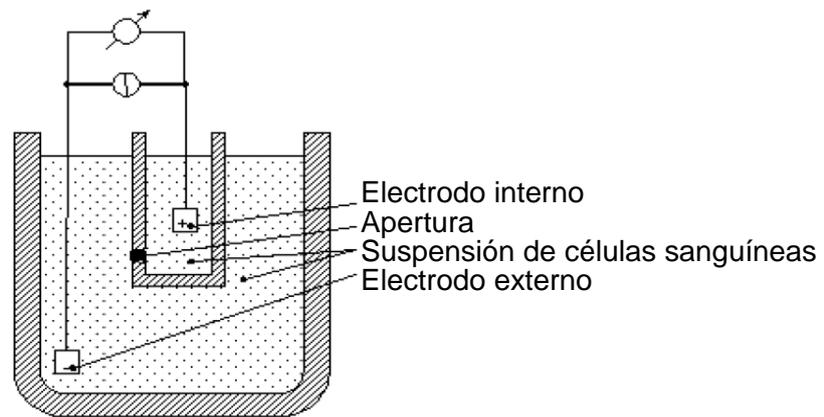
$$HCM = Hb \times 10 / GR(10^6)$$

La HCM tiene pocas ventajas, excepto que esta varía proporcionalmente al VCM, y una alteración desproporcionada en la HCM sugiere un error en el recuento de GR o en la estimación de la Hb (Voigt, 2003).

4.7 Contadores Automatizados para Hematología –Contadores de impedancia

Los analizadores automatizados no son muy acertados en el conteo diferencial de leucocitos, y no reportan cambios en la morfología celular. Por eso solamente un analizador hematológico no es suficiente para producir un hemograma completo. Una fracción de la muestra debe ser examinada por un técnico (Barger y col, 2015).

El principio de impedancia fue y continúa siendo el método convencional de recuento celular en instrumentos de hematología. Los contadores de impedancia cuentan números de células, miden su tamaño y calculan de manera



matemática el Hto, la CHCM, y la HCM. El principio del recuento por impedancia (principio Coulter) consiste en que las células diluidas en una solución de electrolitos pasan a través de una apertura. La resistencia eléctrica a través de la apertura varía de acuerdo con el número y tamaño de células que la atraviesan. La frecuencia del cambio en la resistencia indica el número de células y la magnitud del cambio, el tamaño celular. Los contadores de impedancia deben ser ajustados de modo electrónico para contar células de diferente tamaño en función de los umbrales establecidos para cada especie. Las células sanguíneas caninas son bastantes similares a las humanas, por lo que presentan pocos problemas. Los contadores de impedancia calculan el Hto, no determinado por la aglomeración de los GR en una centrífuga. Se calcula directamente el VCM y se hace la ecuación inversa para despejarlo. La Hb se determina mediante la densidad óptica de la sangre lisada y se calculan los índices eritrocitarios (Willard y col, 2004).

5- OBJETIVOS

5.1 Objetivo general.

Caracterizar el hemograma en ovinos de raza Corriedale clínicamente sanos alimentados a campo natural.

5.2 Objetivos específicos.

- a) Caracterizar el hemograma en ovejas adultas vacías de raza Corriedale.
- b) Caracterizar el hemograma en ovejas adultas gestando de raza Corriedale.
- c) Caracterizar el hemograma en corderos de raza Corriedale.
- d) Caracterizar el hemograma en borregas de raza Corriedale.
- e) Caracterizar el hemograma en carneros de raza Corriedale.
- f) Determinar las posibles diferencias en las variables del hemograma entre las diferentes categorías.

6- MATERIALES Y MÉTODOS

Los protocolos de investigación se llevaron a cabo en el Campo Experimental Nº 2 de la Facultad de Veterinaria, Libertad, Departamento de San José (34° 38'S; 56° 39'W).

6.1 Animales

Se tomaron las muestras de animales de raza Corriedale, 12 ovejas adultas vacías y 15 ovejas gestando (en el último tercio de la gestación), 15 corderos (comenzando en el primer día de vida), 15 borregas y 4 machos adultos enteros (carneros de 2 años) identificados por medio de caravanas numeradas. En todas las categorías se seleccionaron animales clínicamente sanos y con un peso homogéneo.

Como forma de trabajar con animales clínicamente sanos, previo a la formación de grupos se realizó a cada animal un examen físico general (temperatura rectal, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria), realizándose asimismo a cada ovino un análisis de laboratorio de rutina (glicemia, proteínas totales y albumina).

Todos los animales fueron desparasitados previo a comenzar el ensayo. Para la elección del antihelmíntico se utilizaron los datos de un test de reducción de contaje de huevos realizado a principios de año, donde se demuestra la eficacia de Moxidectina sobre *Haemonchus contortus*.

En la Tabla 1, se muestran los resultados obtenidos mediante el Test de Reducción de contaje de huevos para distintas drogas antiparasitarias, donde se observa que la Moxidectina es efectiva contra los géneros *Haemonchus* sp., *Trichostrongylus* spp. y *Ostertagia* sp.

Tabla 1. Test de reducción

	Netobimin	Levamisol	Moxidectina	Closantel
<i>Haemonchus</i> sp.	0	0	99	67
<i>Trichostrongylus</i> sp.	0	57	100	6
<i>Ostertagia</i> sp.	0	00	100	0
<i>Cooperia</i> sp.	0	0	0	0
<i>Oesophagostomun</i> sp.	0	0	0	0

Porcentaje de reducción del Netobimin, Levamisol, Moxidectina y Closantel.

6.2 Determinaciones

A cada animal se le realizaron tres extracciones de sangre con un intervalo de 30 días entre cada una.

Los estudios se realizaron, al final del invierno y principio de primavera comprendido entre los meses de Julio y Setiembre. Si bien en esta época no es común el desarrollo de parasitosis, se mantuvieron libres de parásitos mediante desparasitaciones periódicas.

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción de la vena yugular con jeringas de 10 ml y agujas 18G, realizándose con las mismas un perfil hematológico completo.

La sangre para determinación de glicemia se colectó en tubos con fluoruro de sodio y EDTA, mientras que para determinar proteínas totales y albúmina se colectó en tubos sin anticoagulante. Se centrifugaron inmediatamente y almacenaron congeladas a -20° C en tubos Eppendorf debidamente rotulados e identificados hasta su procesamiento. Para la realización del hemograma se colectaron en tubos con EDTA.

6.3 Análisis de las muestras

La glicemia, proteínas totales y la albumina sérica se determinaron por métodos enzimáticos colorimétricos de punto final, en el Laboratorio de Patología de la Facultad de Veterinaria, utilizando kits comerciales, Glucose Liquicolor® (Human), Total Protein Liquicolor® (Human) y Albumin Liquicolor® (Human) realizándose la lectura a 500 nm, 520 nm y 546 nm respectivamente a una temperatura de 37°C, en un colorímetro digital HUMALYSER JUNIOR (Wiesbaden, Germany).

El perfil hematológico se valoró en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Veterinaria, utilizando para ello un Huma Count (Wiesbaden, Germany). Se valoraron las siguientes variables: recuento de eritrocitos (RBC), recuento de glóbulos blancos (WBC), concentración de hemoglobina (HGB), hematocrito (HCT), volumen corpuscular medio (MCV), hemoglobina corpuscular media (MCH), concentración de hemoglobina corpuscular media (MCHC) y recuento de plaquetas (PLT) (Day y col, 2012). Se realizó un extendido de sangre para un recuento diferencial, con una sensibilidad de 100.

6.4 Análisis estadístico

Las significaciones de las diferencias entre los grupos en los valores del hemograma fueron evaluadas mediante un ANOVA de una vía seguido de

Tukey. Se calcularon la media y el DS de todas las variables del hemograma para cada categoría. La significación de las diferencias entre las categorías en los valores del hemograma fue evaluada mediante un ANOVA de una vía seguido de Tukey.

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa STATISTICA 6.0. Se consideraron diferencias significativas cuando $\alpha < 0.05$.

7- RESULTADOS

En la tabla N° 2, se muestran los resultados de los metabolitos séricos analizados al inicio del ensayo, como forma de comprobar que se trabajó con animales clínicamente sanos (proteínas totales, albúmina y glucosa). No se observan diferencias significativas de los mismos entre las diferentes categorías de ovinos.

Tabla 2. Metabolitos séricos.

	Ovejas gestando	Ovejas vacías	Borregas	Corderos	Carneros
Proteínas totales	6.89 ± 0.56	7.01 ± 0.62	7.20 ± 1.1	6.86 ± 0.76	6.98 ± 0.55
Albumina	3.10 ± 0.30	3.08 ± 0.53	4.12 ± 0.84	4.18 ± 0.73	3.12 ± 0.38
Glicemia	3.38 ± 0.47	4.00 ± .86	4.25 ± 0.87	3.45 ± 0.77	4.076 ± 0.52

Metabolitos séricos al inicio del ensayo, Proteínas totales (g/l), Albúmina (g/l) y glicemia (mmol/l), para las diferentes categorías de ovinos. Se expresan como medias ± DS. No se encontraron diferencias significativas

Las variables hematológicas básicas (GR, Hgb y Hto), así como los índices eritrocitarios (VCM, HCM, CHCM) para las diferentes categorías de ovinos se presentan en la tabla N° 3. En la misma también se presentan los resultados de glóbulos blancos (GB) y plaquetas (Plq)

Tabla 3. Resultados del Hemograma.

	Preñadas	Vacías	Corderos	Borregas	Carneros
GR (x10⁶/μL)	10,81 ^a ± 0,34	11,67 ± 0,53	12,36 ^b ± 0,38	12,91 ^b ± 0,58	13,22 ± 5,36
Hgb (g/dL)	10,20 ± 0,26	10,84 ± 0,44	10,85 ± 0,36	10,90 ± 0,40	12,28 ± 2,48
Hto (%)	33,23 ± 0,92	35,78 ± 1,59	35,16 ± 1,11	36,91 ± 1,54	41,75 ± 12,77
VCM (fL)	30,82 ^c ± 0,45	30,75 ^c ± 0,62	28,55 ^d ± 0,45	28,69 ± 0,94	35,00 ± 8,05
HCM (pg)	9,66 ± 0,16	9,15 ± 0,39	8,76 ^e ± 0,16	8,47 ^e ± 0,26	10,19 ^f ± 4,88
CHCM (%)	32,20 ± 2,79	30,35 ± 0,36	30,70 ± 0,25	29,55 ± 0,35	31,18 ± 5,54
GB (x10³/μL)	9,67 ^g ± 0,59	11,08 ± 0,77	12,54 ^h ± 0,78	10,72 ± 1,30	11,43 ± 1,97
Plq. (x10³/μL)	272,95 ⁱ ± 27,56	209,02 ⁱ ± 23,85	529,29 ^j ± 44,25	255,39 ⁱ ± 55,22	328,25 ⁱ ± 145,33

Valores del hemograma, Glóbulos rojos (GR), Hemoglobina (Hgb), Hematocrito (Hto), Volumen corpuscular medio (VCM), Hemoglobina corpuscular media (HCM), Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), Glóbulos blancos (GB) y Plaquetas (Plq.), para las distintas categorías. Distintas letras representan diferencias significativas, ^{a-b} $p < 0,01$, ^{c-d} $p = 0,014$, ^{e-f} $p < 0,01$, ^{g-h} $p < 0,01$, ^{i-j} $p < 0,01$.

En la tabla N°4 se refieren los valores del recuento leucocitario para cada tipo celular en cada categoría en valores relativos.

Tabla 4. Recuento leucocitario (valores relativos).

	Preñadas	Vacías	Corderos	Borregas	Carneros	Promedio
Neutrófilos	41,3 ± 7,6	38,8 ± 4,9	56,0 ± 7,7	44,7 ± 7,5	44,8 ± 11,8	44,9
Linfocitos	50,3 ± 8,8	50,8 ± 5,8	38,7 ± 4,7	43,1 ± 7,9	48,7 ± 11,3	46,0
Eosinófilos	7,2 ± 2,3	9,7 ± 1,5	4,2 ± 3,1	10,4 ± 4,9	5,3 ± 2,5	7,7
Basófilos	0,2 ± 0,3	0,1 ± 0,2	0,2 ± 0,3	0,1 ± 0,3	0,2 ± 0,3	0,1
Monocitos	1,0 ± 1,0	0,7 ± 0,7	1,0 ± 0,5	1,6 ± 1,0	1,0 ± 1,0	1,2

Recuento leucocitario relativo en %. Se expresan como media ± IC, teniendo en cuenta $\alpha = 0,05$ y DS. No se haya diferencias significativas entre los grupos.

En la tabla N°5 los valores de los leucocitos para cada categoría están expresados en valores absolutos.

Tabla 5. Recuento leucocitario (valores absolutos).

	Preñadas	Vacías	Corderos	Borregas	Carneros	Promedio
Neutrófilos	3.99 ± 0.73	4.29 ± 0.54	7.02 ± 0.97	4.79 ± 0.80	5.12 ± 1.35	5.04
Linfocitos	4.86 ± 0.85	5.62 ± 0.64	4.85 ± 0.59	4.62 ± 0.84	5.57 ± 1.29	5.10
Eosinófilos	0.69 ± 0.22	1.07 ± 0.17	0.52 ± 0.39	1.11 ± 0.52	0.61 ± 0.28	0.80
Basófilos	0,02 ± 0,03	0,01 ± 0,22	0,03 ± 0,4	0,01 ± 0,03	0,02 ± 0,03	0,02
Monocitos	0.97 ± 0.97	0,08 ± 0,08	0.13 ± 0,07	0.17 ± 0.12	0.11 ± 0.11	0.29

Recuento leucocitario absoluto en $\times 10^3/l$. Se expresan como media \pm IC, teniendo en cuenta $\alpha=0,05$ y DS. No se haya diferencias significativas entre los grupos.

Las medias de los glóbulos rojos (GR) fueron de $10.81 \pm 0,34$; $11.67 \pm 0,53$; $12.36 \pm 0,38$; $12.91 \pm 0,58$ y 13.22 ± 5.36 células $\times 10^6 /\mu l$, en los grupos de ovejas gestando, ovejas vacías, corderos, borregas y carneros respectivamente. Se observaron diferencias significativas entre los grupos de corderos y borregas al compararlo con el grupo de ovejas preñadas ($p<0.01$), (Figura I).

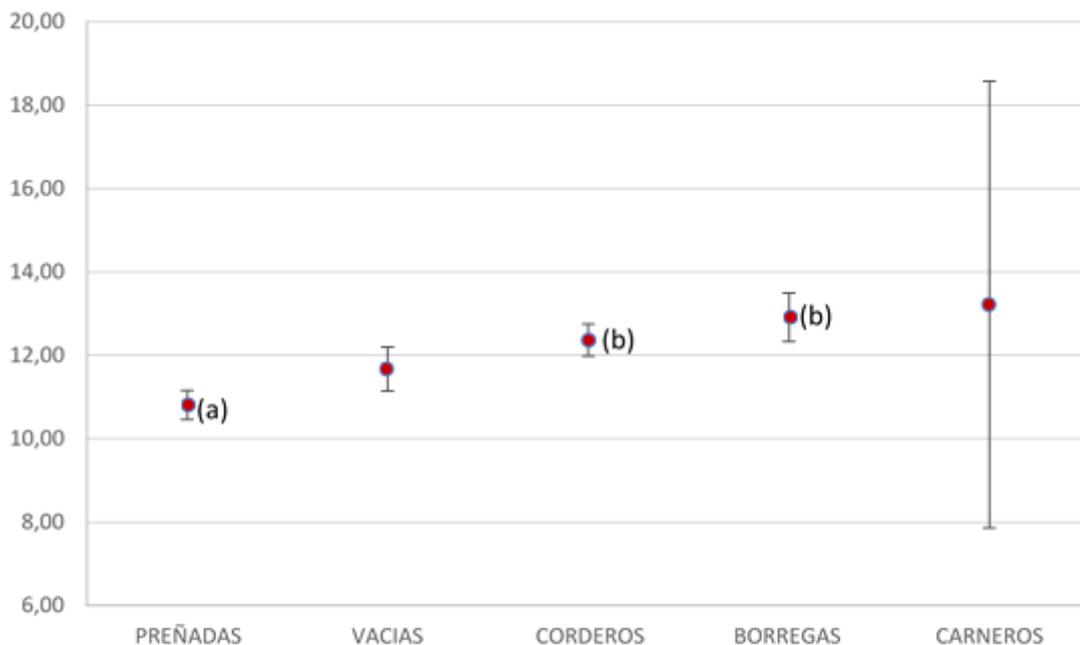


Figura I Glóbulos Rojos. Cantidad de GR contados, expresados en células $\times 10^6 /\mu L$. Se definen las medias para cada grupo y las barras de error indican el intervalo de confianza teniendo en cuenta un $\alpha=5\%$, el ds y el tamaño muestral de cada grupo. Distintas letras representan diferencias significativas ($P<0,01$).

La figura II muestra los valores medios de Hemoglobina (Hgb), $10,20 \pm 0,26$ en ovejas preñadas, $10,84 \pm 0,44$ en ovejas vacías, $10,85 \pm 0,36$ en corderos, $10,90 \pm 0,40$ en borregas y $12,28 \pm 2,48$ g/dL en carneros. No se encontraron diferencias significativas entre los diferentes grupos experimentales.

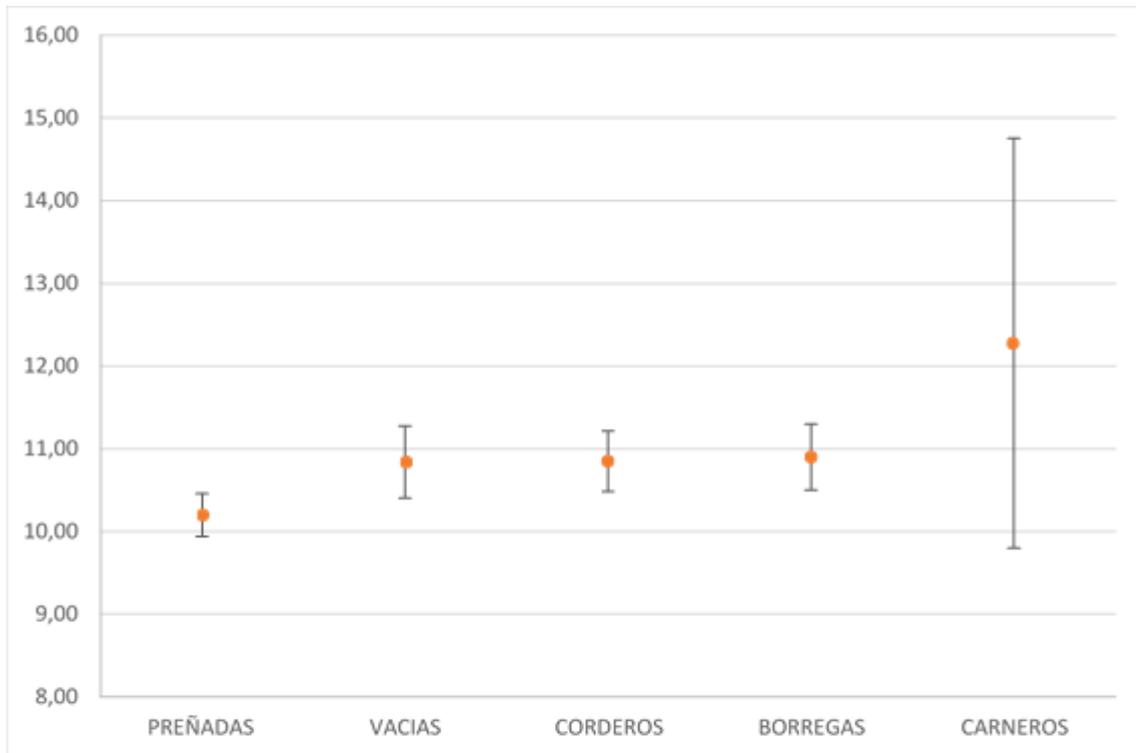


Figura II Valor de Hemoglobina. Cantidad Hgb medida como g/dL. Se definen las medias para cada grupo y las barras de error indican el intervalo de confianza teniendo en cuenta un $\alpha=5\%$, el ds y el tamaño muestral de cada grupo. No se hayan diferencias significativas entre los grupos.

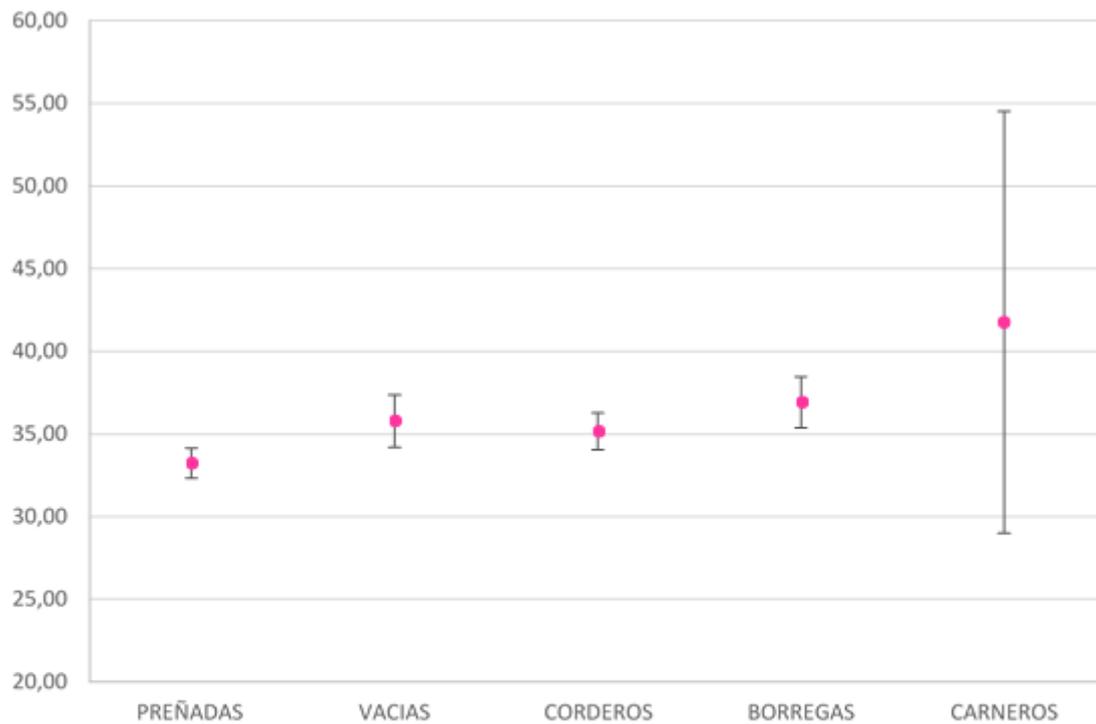


Figura III Valor del Hematocrito. Hto obtenido en %. Se definen las medias para cada grupo y las barras de error indican el intervalo de confianza teniendo en cuenta un $\alpha=5\%$, el ds y el tamaño muestral de cada grupo. No se hayan diferencias significativas entre los grupos.

El hematocrito medido como % del volumen de células aglomeradas fue de 33.23 ± 0.92 ; 35.78 ± 1.59 ; 35.16 ± 1.11 ; 36.91 ± 1.54 y 41.75 ± 12.77 en ovejas preñadas, vacías, corderos, borregas y carneros respectivamente. No se observaron diferencias significativas entre las distintas categorías ovinas. (Figura III).

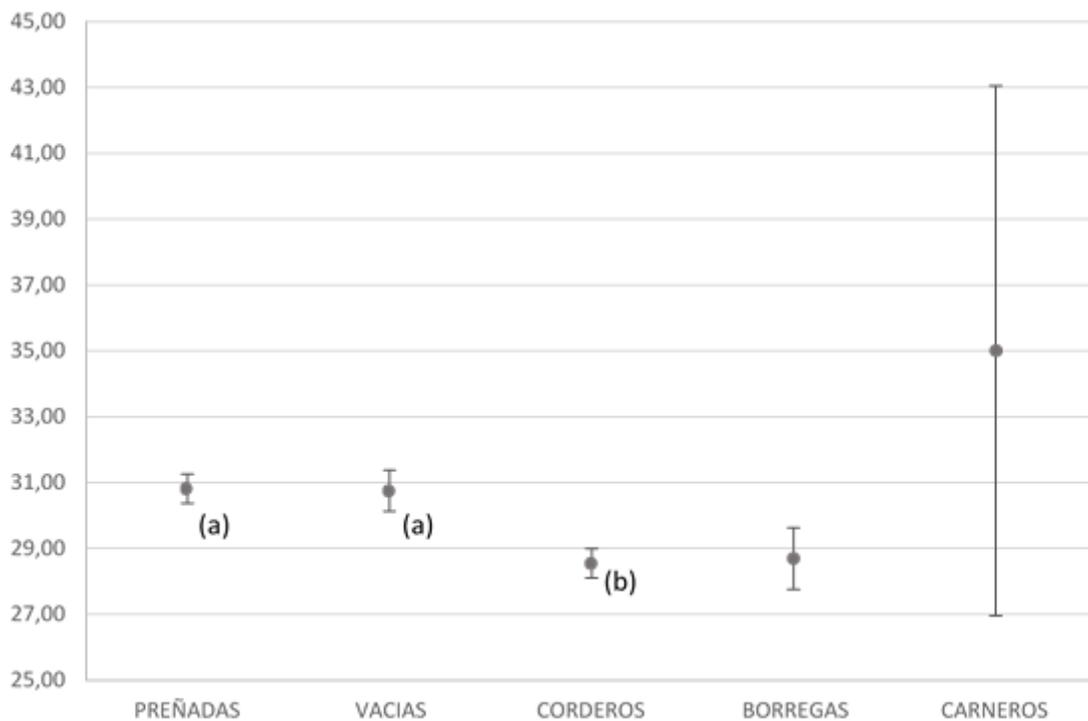


Figura IV Volumen Corpuscular Medio. VCM medida en femtolitros (fL). Se definen las medias para cada grupo y las barras de error indican el intervalo de confianza teniendo en cuenta un $\alpha=5\%$, el ds y el tamaño muestral de cada grupo. Distintas letras representan diferencias significativas ($P=0,014$).

El Volumen corpuscular medio (VCM) para cada grupo dio valores de 31 ± 0.45 ; 31 ± 0.62 ; 29 ± 0.45 ; 29 ± 0.94 y 35 ± 8.05 fL, para los grupos de preñadas, vacías, corderos, borregas y carneros respectivamente. La diferencia significativa se observó en el grupo de corderos en relación a las ovejas preñadas y vacías ($p < 0.05$), (Figura IV)..

En la figura V se muestran los resultados de la hemoglobina corpuscular media (HCM) en los distintos grupos experimentales, ($9,66 \pm 0.16$ en ovejas preñadas; $9,15 \pm 0.39$ en vacías; $8,76 \pm 0.16$ en corderos; $8,49 \pm 0.26$ en borregas y $10,19 \pm 4.88$ pg en carneros). Se halló diferencia significativa entre el grupo de carneros y borregas al compararlo con el grupo de carneros ($p < 0.01$)

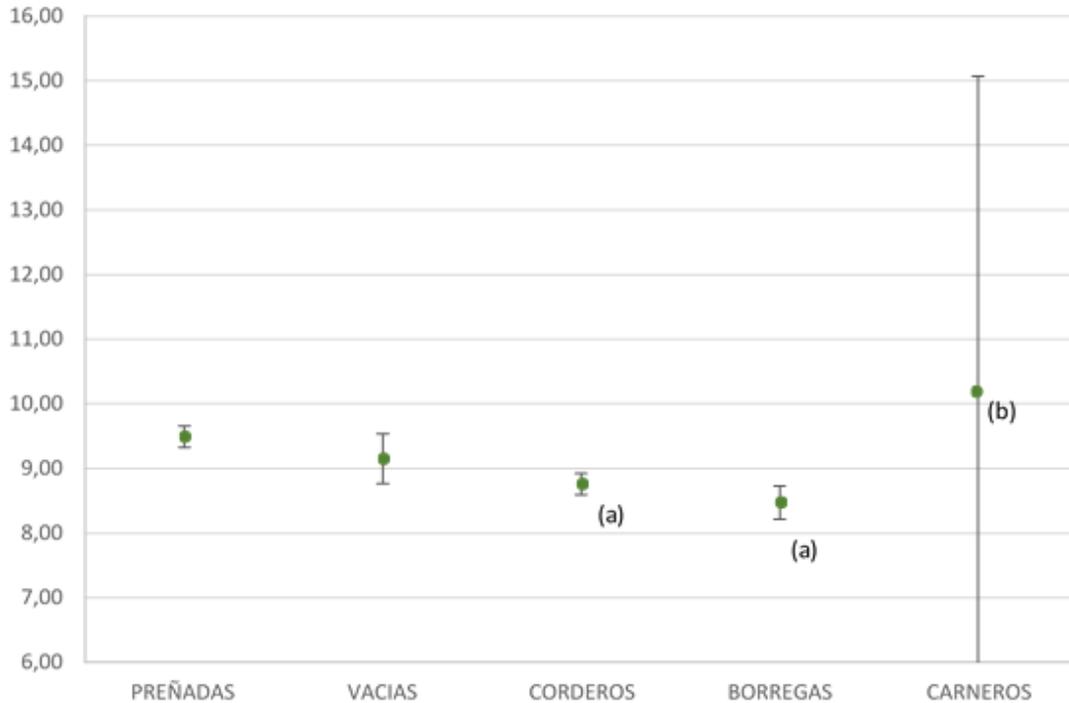


Figura V Hemoglobina Corpuscular Media. HCM obtenida en picogramos (pg). Se definen las medias para cada grupo y las barras de error indican el intervalo de confianza teniendo en cuenta un $\alpha=5\%$, el ds y el tamaño muestral de cada grupo. Distintas letras representan diferencias significativas ($P<0,01$).

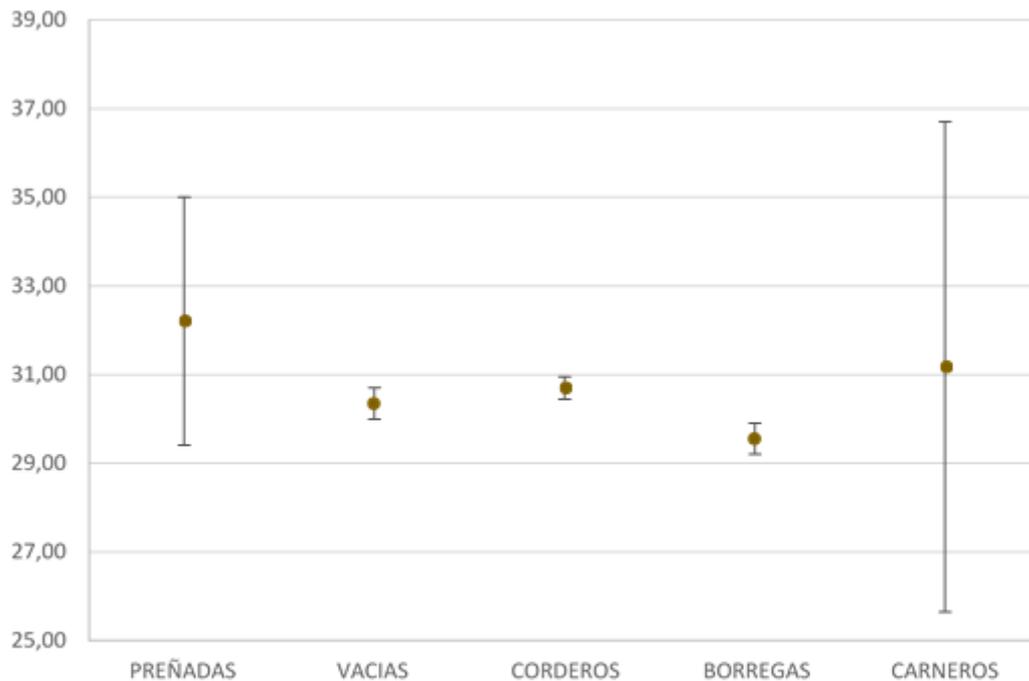


Figura VI Concentración de hemoglobina corpuscular media. CHCM obtenida en %. Se definen las medias para cada grupo y las barras de error indican el intervalo de confianza teniendo en cuenta un $\alpha=5\%$, el ds y el tamaño muestral de cada grupo. No se hallaron diferencias significativas entre los grupos.

La Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) presento valores de $32,20 \pm 2.79$ en ovejas preñadas, $30,35 \pm 0.36$ en vacías, $30,70 \pm 0.25$ en corderos, $29,55 \pm 0.35$ en borregas y 31.18 ± 5.54 % en carneros. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos. (Figura VI).

Los GB expresados en células $\times 10^3/\mu\text{L}$, dieron valores medios de $9,67 \pm 0,59$, $11,08 \pm 0,77$, $12,54 \pm 0,78$, $10,72 \pm 1,30$, $11,43 \pm 1,97$ para los grupos de preñadas, vacías, corderos, borregas y carneros respectivamente. Se observó una diferencia significativa ($p < 0,01$) entre los grupos de los corderos y las ovejas preñadas. (Figura VII)

Las plaquetas se grafican en la figura VIII con valores de, $272,39 \pm 27,56$ en ovejas preñadas, $209,02 \pm 23,85$ en vacías, $529,29 \pm 44,25$ en corderos, $255,39 \pm 55,22$ en borregas, y $328,25 \pm 145,33$ células $\times 10^3/\text{dL}$ en carneros. Las diferencias significativas se mostraron en el grupo de corderos en relación a los demás grupos ($p < 0,01$).

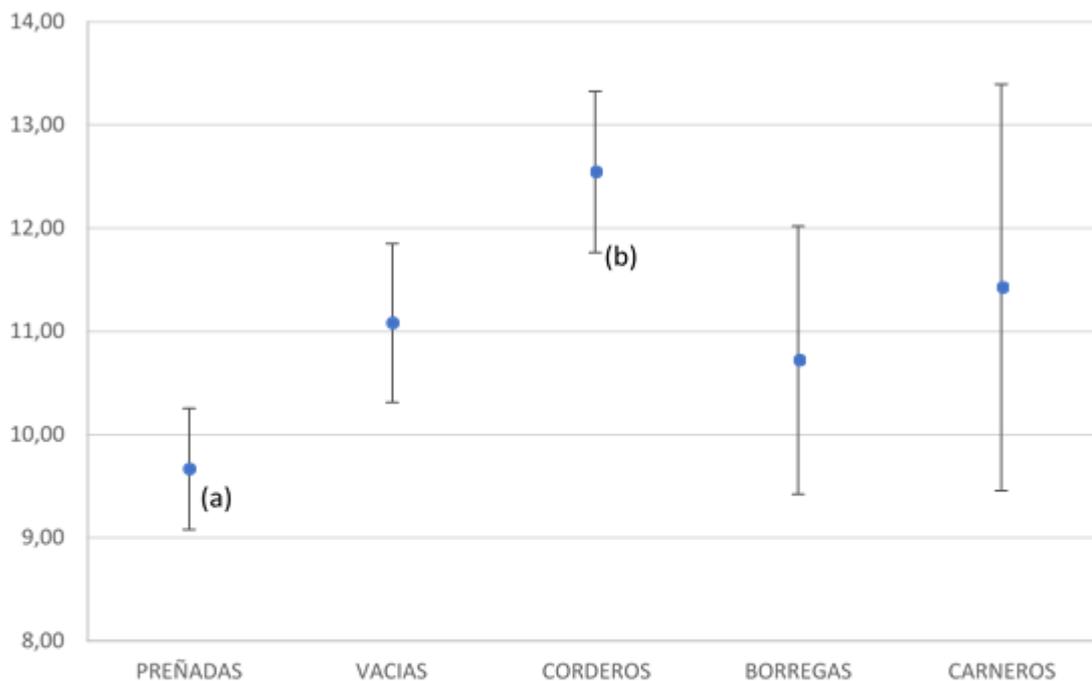


Figura VII Globulos Blancos. Cantidad de GB contados, expresados en células $\times 10^3/\mu\text{L}$. Se definen las medias para cada grupo y las barras de error indican el intervalo de confianza teniendo en cuenta un $\alpha=5\%$, el ds y el tamaño muestral de cada grupo. Distintas letras representan diferencias significativas ($P < 0,01$).

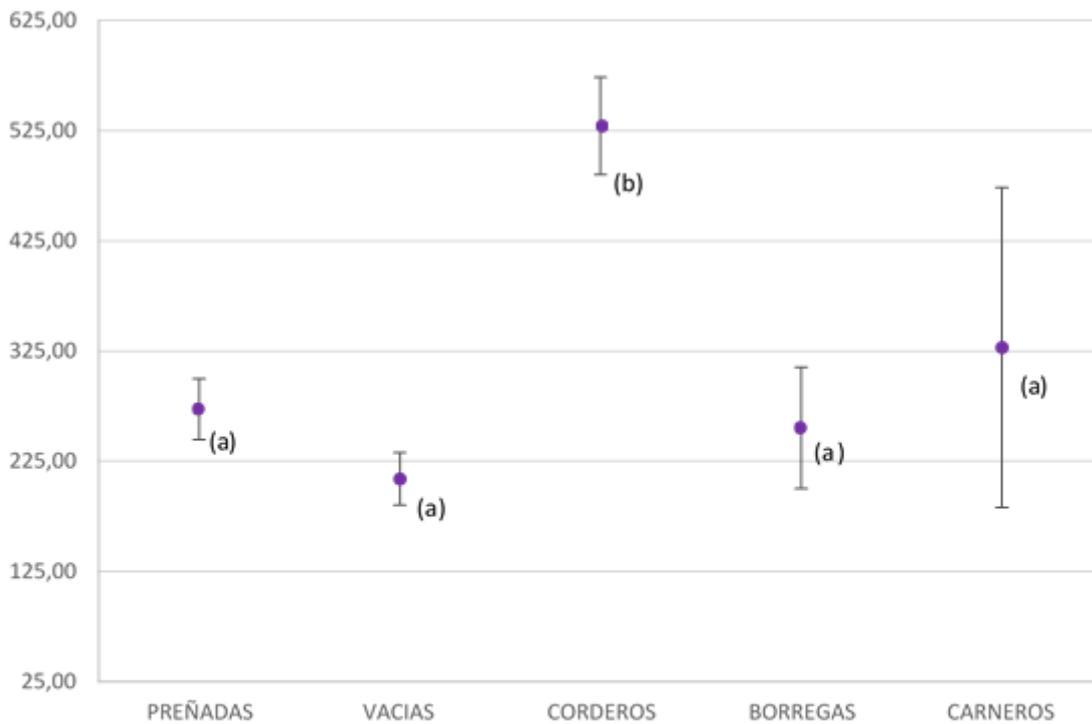


Figura VIII Plaquetas. Plaquetas medidas como células $\times 10^3/\mu\text{L}$. Se definen las medias para cada grupo y las barras de error indican el intervalo de confianza teniendo en cuenta un $\alpha=5\%$, el ds y el tamaño muestral de cada grupo. Distintas letras representan diferencias significativas ($P<0,01$).

8- DISCUSIÓN

Los resultados de glicemia, proteínas totales y albumina obtenidos de todos los animales al inicio del ensayo, se encontraron que se toman de referencia para la especie ovina. Kaneko y col (2008) sugieren que los valores de glicemia oscilan entre 50 y 80 mg/dl, valores que coinciden con los hallados en nuestro trabajo. Los valores de proteínas totales y albumina fueron similares a los descritos por Kaneko y col (2008), quienes proponen que los valores séricos de proteínas totales se encuentran entre 6 y 7 grs/dl, en tanto la albumina representa un valor promedio de 4 grs/dl.

Al analizar los datos de las variables hematológicas básicas (GR, Hgb y Hto), las cuales permiten diagnosticar casos de anemia, se encontró en las ovejas preñadas, una disminución significativa de GR al compararlos con los datos obtenidos de corderos y borregas. Asimismo, las ovejas gestadas presentaron menores valores de Hgb y Hto que el resto de las categorías, lo cual a pesar de no tener diferencia significativa, mostró una tendencia similar a lo descrito por Gutnisky (1980) y Morros (1961). Estos autores proponen que estos hallazgos serían causados por una disminución relativa fisiológica del volumen plasmático en las ovejas preñadas. Sin embargo, nuestros datos no coinciden con los reportados por Ullrey y col (1965a) quienes trabajando con ovejas de

razas carniceras (Suffolks, Hampshires y Shropshires), encontraron que las ovejas preñadas presentaban mayores valores de GR, Hgb y Hto que el resto de las categorías.

Los valores de GR encontrados en las categorías menores (corderos y borregas) en nuestro trabajo fueron superiores a los reportados por Ullrey y col, (1965a) quienes trabajaron con razas carniceras y a los encontrados por Fernández del P y col, (1987), quienes realizaron su trabajo con corderos de razas lecheras (Churra y Manchega). Sin embargo, nuestros datos son coincidentes con los comunicados por Ullrey y col, (1965a) en relación al número de GR en ovejas vacías. Partida Luna y col, (2011) encontraron en ovejas criollas vacías valores de GR inferiores a los encontrados en las ovejas vacías de nuestro ensayo experimental.

En relación a los valores de Hgb, los citados por Ullrey y col, (1965a) y Partida Luna y col, (2011) para ovejas vacías, fueron superiores a los hallados por nosotros. En tanto para corderos y borregas, nuestros valores fueron similares a los reportados por Ullrey y col, (1965a) y superiores a los comunicados por Fernández del P y col, (1987) en corderos.

El volumen de células aglomeradas analizado a través del hto, no presentó diferencias significativas entre las diferentes categorías estudiadas, lo cual coincidió con lo reportado por Ullrey y col, (1965a), Fernández del P y col, (1987) y Partida Luna y col, (2011).

En relación a los índices eritrocitarios (VCM, HCM, CHCM), los corderos mostraron un significativamente menor VCM al compararlo con las ovejas preñadas y vacías; las borregas también presentaron GR con menor VCM, la cual a pesar de no ser estadísticamente significativa, presentó una tendencia marcada con respecto a las categorías mayores. En relación a la HCM, las categorías menores (corderos y borregas), difirieron significativamente con los carneros, los cuales presentaron GR con una mayor cantidad de Hb. Las otras categorías ovinas mayores (preñadas y vacías), sin bien presentaron Gr con una mayor cantidad de Hb, esta diferencia no llegó a ser estadísticamente significativa. Ullrey y col, (1965a), encontró que los GR de ovejas carniceras preñadas y de los corderos, presentaban un mayor tamaño (VCM) y cantidad de Hgb (HCM) que las ovejas y corderos de nuestro ensayo, en tanto Partida Luna y col, (2011), comunica también resultados superiores en estos índices eritrocitarios para ovejas criollas vacías.

Byers y Kramer, (2010) y Ramos y Ferrer, (2007) citan valores promedio para los GB en ovinos similares a los hallados por nosotros. En nuestro trabajo, los glóbulos blancos de los corderos fueron significativamente mayores que los de las ovejas preñadas, lo cual no coincide con lo publicado por Ullrey y col,

(1965b), quienes reportan que los corderos presentaban un valor significativamente más bajo de GB que el resto de las categorías.

Realizado el recuento leucocitario para cada tipo celular, en cada categoría de ovinos, no se encontraron diferencias significativas, datos similares a los reportados por Byers y Kramer, (2010), Ramos y Ferrer, (2007) y Ullrey y col, (1965b).

Los valores promedio de plaquetas hallados en nuestro ensayo fueron similares a los citados por Byers y Kramer, (2010), León y Torres, (2010) y Ramos y Ferrer, (2007). En nuestro trabajo los corderos presentaron un número significativamente mayor de plaquetas que el resto de las categorías ovinas.

No se encontró en la bibliografía consultada trabajos referidos a valores hematológicos en carneros.

9- CONCLUSIONES

En el presente trabajo se realizó una caracterización de los valores que presentan las variables hematológicas básicas (GR, Hgb y Hto), los índices eritrocitarios (VCM, HCM y CHCM), los globulos blancos y la distribución relativa de los mismos, así como de las plaquetas para las diferentes categorías de ovinos de raza Corriedale criados a campo natural.

Las ovejas preñadas presentaron un menor valor de GR, Hgb y Hto que el resto de las categorías.

Los GR de las categorías menores (corderos y borregas) presentaron un menor VCM y HCM.

Los corderos presentaron un mayor número de GB y Plaquetas que el resto de las categorías ovinas.

BIBLIOGRAFIA.

1. Barger, A., MacNeil, A. (2015) Clinical pathology and laboratory techniques for veterinary technicians. Ames, Wiley-blackwell, 255 p.
2. Byers S R, Kramer J W (2010) Normal hematology of sheep and goats. En: Weiss, D J., Wardrop, K J, Schalm's veterinary hematology. 6ª ed. Ames, Blackwell, pp 836-842.
3. Couto Hack, A. K. (2010). Caracterización genética y perfil Hematológico y bioquímico en ovinos de Raza "criolla lanada serrana" del Planalto serrano catarinense – santa catarina, brasil. Disponible en: <https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/827/2009COUTO%20HACK,%20KARINA.pdf?sequence=1> Fecha de consulta:10/05/2017
4. Day M, Mackin A, Littlewood J (2012). Manual de hematología y transfusión en pequeños animales. Barcelona, Lexus, 445p.
5. dos Anjos S T, Welker Biondo A, Pires dos Santos A, (2007) Manual de patologia clinica veterinaria. Disponible en: http://www.zoo.ba.gov.br/wp-content/files/manual_de_patologia_clinica_veterinria.pdf Fecha de consulta: 10/05/2017.
6. Fernández del P M J, Montes A M, Bernal L J, García, P P Gutiérrez, P. (1987) Perfil metabólico del ganado ovino: hematología clínica de las razas ovinas Churra y Manchega en periodos de crecimiento. XII Jornada Científica de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Pp71-80 Disponible en: <https://drive.google.com/file/d/0B7ubM3h8rlwaOVlkV1d2ckdjMzQ/view> Fecha de consulta: 10/05/2017.
7. Garcia G (2000). Como debe ser el Corriedale. En: Publicación técnico ganadera. 26:21-30 Disponible en: <http://www.agronomia.uchile.cl/u/download.jsp?document=96839&property=attachment&index=1&content=application/pdf> Fecha de consulta: 10/05/2017.
8. García Partida P, Prieto Montaña F, Ruiz Abad L (1998). La oveja como animal de experimentación. VI Congress of Mediterranean Federation for Health and Production of Ruminants. Postojna, Slovenia, pp 49 – 54.
9. González Montaña J R, Rejas J, Alonso A, Torio R; Fernández Revuelta J, Prieto Montaña F (1997). Otra utilidad de la oveja: animal de experimentación. Actas de las XXII Jornadas de la SEOC. Santa Cruz de Tenerife, España pp 377 – 383.

10. Gutnisky A (1980) Propiedades y composición de la sangre. En: Houssay B A. Fisiología Humana. El Ateneo, pp 10-24.
11. INE (2014) Agropecuario, En: Uruguay en cifras 2014, Disponible en: http://www.ine.gub.uy/documents/10181/39317/Uruguay_en_cifras_2014.pdf/aac28208-4670-4e96-b8c1-b2abb93b5b13 Fecha de consulta: 10/05/2017
12. Kaneko J, Harvey J (2008) Clinical Biochemistry of Domestic Animals, 6ª ed., Amsterdam, Elsevier, 916 p.
13. León P L, Torres D J (2010) Manejo de rebaños ovinos en el occidente de Venezuela y valores sanguíneos en ovinos. Disponible en: https://www.google.com.uy/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwilxcLa3vLTAhVFI5AKHVRUAZ8QFggpMAE&url=http%3A%2F%2Fwww.saber.ula.ve%2Fbitstream%2F123456789%2F31339%2F1%2Farticulo6.pdf&usq=AFQjCNGqc8UWyyTkSKE7nuXbAuSoSkosng&sig2=DHAsvB_qQsdH1ON5k4ojag Fecha de consulta: 10/05/2017
14. Martino D, Methol M, Oleaga A, Pirelli H (2008) Cambios en el uso de la tierra. En: PNUMA, CLAES, DINAMA. GEO Uruguay Informe del estado del ambiente, Disponible en: http://www.mvotma.gub.uy/ciudadania/item/download/112_3963429a7c6458e8fa4c13df75d50892.html Fecha de consulta 10/05/2017 pp. 58-113.
15. Meyer, D. J., Harvey, J. W., (2007). Medicina laboratorial veterinaria, interpretación y diagnóstico. 3ª ed. Barcelona, Multimédica. 452p.
16. MGAP-OPYPA (2016). Anuario OPYPA. Situación y perspectivas de la cadena ovina, Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/anuario_opypa_2016_en_baja.pdf Fecha de consulta: 10/05/2017
17. Morros J (1961). Elementos de Fisiología. 8ª ed. Barcelona, Científico Médico. Barcelona. 568 p
18. NZSBA (2016). New Zealand sheepbreeder's association, Corriedale, breed information. Disponible en: <http://www.nzsheep.co.nz/index.php?page=corriedale> Fecha de consulta: 10/08/2017
19. Partida Luna S.G., Uribe Pérez L., Butrón Ramírez A. (2011) Contribución al estudio de parámetros hemáticos en ovinos criollos bajo las condiciones de la granja experimental, Chapingo. Disponible en:

- <http://zootecnia.chapingo.mx/assets/11partida-uribe.pdf> Fecha de consulta: 10/05/2017
20. Perez Alvarez E (2015). Uruguay: Exportaciones del Rubro Ovino. Disponible en: [http://www.sul.org.uy/descargas/be/Bolet%C3%ADn_Exportaciones_del_Rubro_Ovino_\(enero_2017\).pdf](http://www.sul.org.uy/descargas/be/Bolet%C3%ADn_Exportaciones_del_Rubro_Ovino_(enero_2017).pdf) Fecha de consulta:10/05/2017.
21. Prieto F, García Partida P (1999). Los animales de granja en la investigación biomédica. En: Pérez C C, Díez I, García Partida P, Introducción a la experimentación y protección animal. Ponferrada, Universidad de León, pp 47 – 64.
22. Ramos J J, Ferrer L M (2007) Exploración cardiovascular en: Ramos J J, Ferrer L M, La exploracion clínica del ganado ovino. Zaragoza, Servet, pp 149-176.
23. Rebar, A. H., MacWilliams P.S., Feldman B.F., Metzger F.L., Pollock R.V.H., Roche J., (2015). Hemograma, Componentes del hemograma e importancia. Disponible en: http://www.avivalabcr.com/guia_rapida_laboratorio.pdf Fecha de consulta 10/05/2017
24. Ross M H, Wojciech P, (2013). Tejido sanguíneo. En: Ross M H, Wojciech P, Histología, Texto y atlas color con biología celular y molecular 6ª ed, Buenos Aires, Panamericana. pp 268-289.
25. Salgado, C. (2004) Producción Ovina: Situación actual y perspectivas. Producción Ovina, 16:7-13.
26. SCCU (1938) La Raza Corriedale, Montevideo, Sociedad de Criadores Corriedale del Uruguay. 100p.
27. Šoch, M., Brouček, J. B., Šrejberová, P. (2011). Hematology and blood microelements of sheep in south Bohemia. Biologia; 66:181—186.
28. SUL (1986) Apuntes de lanares y lanas, Razas, Montevideo, SUL. Pp 75-95
29. Ullrey D. E., Miller E. R., Long C. H., Vincent B. H. (1965a) Sheep hematology from birth to maturity I. Erythrocyte population, size and hemoglobin concentration. Journal of Animal Science; 24:135-140.
30. Ullrey D. E., Miller E. R., Long C. H., Vincent B. H. (1965b) Sheep hematology from birth to maturity I. Leukocyte concentration and differential distribution. Journal of Animal Science; 24:141-144.

31. Uruguay XXI (2015). Sector Agronegocios Disponible en:
<http://www.uruguayxxi.gub.uy/informacion/wp-content/uploads/sites/9/2015/06/Informe-Agronegocios-Junio-2015.pdf>
Fecha de consulta: 10/05/2017
32. Vigil E. (1985) El ovino. En: Sotillo J L, Serrano V, Producción Animal, Albacete, Etnología Zootecnia, V 2.
33. Voigt, G. L. (2003) Conceptos y técnicas hematológicas para técnicos veterinarios. Zaragoza, Acribia, 144 p.
34. Willard, M D, Tvedten, H (2004). Diagnóstico clinicopatológico práctico en pequeños animales. Buenos Aires, Intermédica, 434 p.