



**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**APROXIMACIÓN A LA ESTANDARIZACIÓN DEL HEMOGRAMA EN BOVINOS
DE LA RAZA HEREFORD ALIMENTADOS SOBRE CAMPO NATURAL**

por

FROS HERNÁNDEZ, Sindy

TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias.

Orientación: Producción Animal.

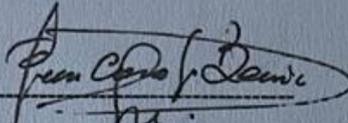
MODALIDAD: Ensayo Experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2021**

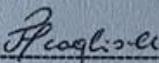
PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

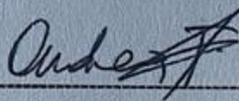
Presidente de mesa:


Dra. CARDOZO, Elena

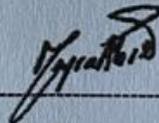
Segundo miembro:


Dra. SCAGLIONE, Fiorella

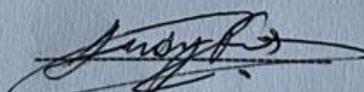
Tercer miembro:


Dra. FERNANDEZ, Andrea

Cuarto miembro:


Dra. ABREU, Mayra Cecilia

Autor:


FROS HERNANDEZ, Sindy

Fecha de aprobación: 13 Diciembre 2021

AGRADECIMIENTOS

A mi tutora Dra. Fiorella Scaglione por su asistencia en la realización de este trabajo y a todo el personal del campo sitio del experimento, que trabajan en conjunto y con voluntad extrema.

A la Dra. Cecilia Abreu, por aceptar involucrarse en el proyecto y dar todo su apoyo y responsabilidad.

Al Dr. Rafael Carrequiry por su aporte en bibliografía, fundamental para llevar a cabo el proyecto.

A mis familiares por la comprensión, apoyo incondicional y financiero desde el inicio de la carrera.

A mi esposo, por ser impulso necesario para continuar adelante.

Y un último agradecimiento, pero no menos importante a nuestra casa de estudio que fue la Facultad de Veterinaria en Montevideo, que ya no estará en el mismo sitio, que tantos recuerdos quedaron marcados y comienza un nuevo ciclo en un nuevo lugar.

TABLA DE CONTENIDO

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	6
1- RESUMEN	7
2- SUMMARY	8
3- INTRODUCCIÓN	9
4- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	11
4.1 La raza Hereford y sus características	11
4.2 La sangre	11
4.3 Obtención y manejo de la sangre	12
4.4 Hemograma: Técnica de recuento manual de células hemáticas	13
4.5 Hemograma: Contadores automatizados para hematología–Contadores de impedancia	15
4.6 Frotis de sangre	16
4.6.1 Técnica de frotis	16
4.6.2 Tinción del frotis de sangre	17
4.6.3 Análisis del frotis sanguíneo	18
4.6.3.1 Eritrocitos	19
4.6.3.2 Plaquetas o trombocitos	20
4.6.3.3 Recuento diferencial de glóbulos blancos (Leucocitos)	20
4.7 Pruebas hematológicas de rutina	22
4.7.1 Volumen celular aglomerado (VCA) o Hematocrito (Hto)	22
4.7.2 Determinación de la hemoglobina (Hgb)	23
4.8 Índices Eritrocitarios	23
4.8.1 Volumen corpuscular medio (VCM)	23
4.8.2 Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM)	24
4.8.3 Hemoglobina corpuscular media (HCM)	24
5- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	25
6- HIPÓTESIS	25
7- OBJETIVOS	25
7.1 Objetivo general	26
7.2 Objetivos específicos	26
8- MATERIALES Y MÉTODOS	26
8.1 Animales	26
8.2 Determinaciones	27

8.3 Análisis de las muestras	27
8.4 Análisis estadístico	27
9- RESULTADOS	28
10- DISCUSIÓN	33
11- CONCLUSIONES	35
12- REFERENCIAS	36
ANEXOS	39

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
Tabla 1: Valores del Hemograma en bovinos Hereford.....	29
Tabla 2: Recuento Leucocitario (valores relativos).....	30
Tabla 3: Recuento Leucocitario (valores absolutos).....	31
Tabla 4: Intervalos hematológicos obtenidos en bovinos Hereford de Uruguay. Valores mínimos y máximos para cada variable.	32
Figura 1: Cámara de Neubauer	15
Figura 2: Contadores automatizados.....	16
Figura 3: Técnica de portaobjetos para preparación de un frotis de sangre.....	17
Figura 4: Tres métodos de recuento diferencial en frotis sanguíneo.....	22

1- RESUMEN

Uruguay es un país ganadero que cuenta con un stock de bovinos importante, en el cual se faenan y se exportan animales en pie criados a base de un sistema productivo sustentable, donde los animales viven a cielo abierto durante todo el año, y son alimentados en su mayoría a base de pasturas naturales y proteínas vegetales, estando prohibido por ley el uso de proteínas de origen animal, así como de sustancias hormonales. El proceso productivo que se realiza en el país para obtener productos de calidad es considerado de alto prestigio a nivel internacional ya que se implementa el sistema de trazabilidad bovina individual, el cual permite el seguimiento del producto desde el nacimiento hasta el consumidor final, el biotipo carnívoros cuenta con predominio de las razas Hereford y Aberdeen Angus. El análisis de los distintos componentes sanguíneos permite obtener información valiosa sobre el estado de salud de cada animal, a través del conocimiento del estado de su sistema inmunitario, además permite evaluar el funcionamiento de diferentes órganos y colabora en el diagnóstico de ciertas enfermedades, permitiendo así, determinar la evolución de procesos crónicos y del estado nutricional de cada individuo. Específicamente, el hemograma permite evaluar la cantidad, tamaño y morfología de las distintas células que componen la matriz sanguínea. En este trabajo de tesis de grado se procedió a la aproximación de la estandarización de los valores del hemograma para distintas categorías de ganado Hereford criado en campo natural. Se estudiaron 15 vacas adultas no gestantes, 15 vacas adultas cursando su segundo tercio de gestación (confirmado mediante ecografía), 15 ternero/as, y 10 vaquillonas; todos evaluados previamente mediante un examen clínico individual para trabajar con animales clínicamente sanos. Se colectaron muestras de sangre individuales en tubos con anticoagulante EDTA durante tres meses con intervalos de 30 días, las cuales fueron transportadas debidamente refrigeradas hasta su análisis en laboratorio. Se determinaron valores de las variables hematológicas básicas como cantidad de glóbulos rojos (GR), hemoglobina (Hgb) y hematocrito (Hto); los índices eritrocitarios como son el volumen corpuscular medio (VCM), la hemoglobina corpuscular media (HCM), la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) y red blood cell distribution (RDW-CV) o el ancho de distribución de glóbulos rojos; los leucocitos (linfocitos, neutrófilos, monocitos, eosinófilos y basófilos) y su distribución relativa y absoluta; y por último, el número de plaquetas y el volumen promedio de plaquetas (VPM) para las distintas categorías animales. Se obtuvo para cada grupo animal y para cada parámetro, valores mínimos y máximos y la media de cada uno, dejando plasmados estos valores en tablas para su posterior uso como referencia. Se encontraron diferencias significativas entre categorías para los glóbulos rojos, la hemoglobina, el hematocrito, el ancho de distribución de glóbulos rojos y para el volumen corpuscular medio y hemoglobina corpuscular media, y en el leucograma para los neutrófilos, los linfocitos y los eosinófilos; también se observaron diferencias para plaquetas. Estos resultados refuerzan la necesidad de la utilización de hemogramas discriminados por categoría animal.

2- SUMMARY

Uruguay is a livestock country that has an important stock of cattle, which are slaughtered or exported as live animals. These animals are raised on the basis of a sustainable production system, where they live in the open air throughout the year, and are fed, at their most, based on natural pastures and vegetable proteins, being the use of animal proteins and hormones prohibited by law. Uruguayan beef is highly prestigious internationally for the production process and the final quality of its products, in addition to implementing the individual bovine traceability system to 100 % of the animals, which allows the product to be tracked from birth to the final consumer, Hereford and Aberdeen Angus are the most common breeds in beef cattle productions in the country. The blood test allows us to have valuable information on the health status of each animal, the performance of its immune system, evaluate the functioning of different organs, help in a diagnosis of certain conditions and diseases as well as monitor chronic processes; and allows us to have an overview of the nutritional status of each animal, all this by analyzing the different components of the blood. The hemogram allows us to evaluate the quantity, size and morphology of the different cells that make up the blood. In this thesis, what we intended to do was to standardize hemogram values for different categories of Hereford cattle raised on a natural grass feed basis. The groups were 15 empty adult cows, 15 pregnant adult cows during their second third of pregnancy (confirmed by ultrasound), 15 calves, and 10 heifers, all previously evaluated by an individual clinical examination to work with clinically healthy animals. Individual blood samples were collected in tubes with EDTA anticoagulant at intervals of 30 days, during three months, and were transported refrigerated until their analysis in the laboratory. We determine values of the basic hematological variables: red blood cells (RBCs), hemoglobin (Hgb) and hematocrit (Hct); erythrocyte indices such as mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and red blood cell distribution (RDW-CV) or red blood cell distribution width; leukocytes (lymphocytes, neutrophils, monocytes, eosinophils and basophils) and their relative and absolute distribution; and number of platelets and the average platelet volume (MPV) for the different groups of the project. Minimum and maximum values and the mean of each parameter were obtained for each group of animals, leaving them reflected in tables for later use as a reference. Significant differences were found for red blood cells, hemoglobin, and hematocrit; wide distribution of red blood cells, mean corpuscular volume and mean corpuscular hemoglobin, as well as for neutrophils, lymphocytes and eosinophils; also for platelets. This results reinforces the need for the use of blood counts discriminated by animal category.

3- INTRODUCCIÓN

Uruguay tiene 15,9 millones de hectáreas aptas para uso agropecuario, cerca del 93% de la superficie terrestre del país, de las cuales, 72,8 % son campo natural y rastrojo. Nuestro país cuenta con ventajas comparativas en la producción de alimentos a nivel internacional, además tiene un reconocido prestigio internacional en el proceso productivo y en la calidad de varios productos agropecuarios (Uruguay XXI, 2020).

Dentro del biotipo carnicero del Uruguay, más del 80% son razas británicas, predominando las razas Hereford y Aberdeen Angus, las cuales son criadas en sistemas de producción basados en pasturas nativas y caracterizados por el pastoreo conjunto de ovinos y bovinos a cielo abierto (Patrone et al., s.f). Dada la predominancia de la raza Hereford en el país, es que fue seleccionada para realizar esta tesis.

En el período 2019-2020 se contaba con un stock bovino aproximado de un poco más de once millones de cabezas según la Declaración Jurada de Dicose de 2020, presentando una baja de 1,4% respecto al año anterior. Se faenan alrededor de dos millones de cabezas anualmente y en 2019 se exportaron 300.000 animales en pie (Carve 850, 2019). El bloque Mercosur, en el cual Uruguay está integrado, se consideró como el principal bloque de exportación de carne vacuna fresca durante el 2019 (Uruguay XXI, 2020). Dado que la demanda internacional sigue creciendo y para que Uruguay pueda conservar su actual participación en el mercado le supone aumentar sostenidamente sus exportaciones (Ministerio de ganadería agricultura y pesca, 2019). Las exigencias de los consumidores a nivel internacional se encuentran en un constante crecimiento, tanto en calidad como inocuidad de los alimentos. Uruguay como país productor de estos alimentos de origen animal, debe adaptarse a estas normas establecidas para lograr mantener como clientes a estos consumidores y tener las puertas abiertas de nuevos mercados (Herrera, 2019).

Según la declaración jurada 2019-2020 de Dicose el rodeo uruguayo está constituido por un 37% de vacas entoradas, 25,4% de terneros y terneras, 15% de vaquillonas, 4% de vacas de invernar y un 1,5% del rodeo lo ocupan los toros.

En particular, la ganadería bovina cuenta con un sistema de trazabilidad que permite conocer toda la información del producto desde el nacimiento del animal hasta que llega al consumidor final. Esto permite certificar la calidad e inocuidad del alimento, lo que ha tenido una gran aceptación en los mercados internacionales más exigentes y ha posicionado a Uruguay como un referente mundial en el proceso de trazabilidad de productos cárnicos (Uruguay XXI, 2020).

Animales criados en un sistema productivo sustentable, en el que viven al aire libre durante todo el año (Uruguay XXI, 2020) y que son alimentados con proteínas vegetales (en ausencia de productos o subproductos de origen animal, además de la prohibición por ley del uso de todo tipo de hormonas en la alimentación del ganado). Todos los procesos son desarrollados siguiendo rigurosas normas que involucran aspectos tales como Programas de Buenas Prácticas de Manufactura (GMP), Procedimientos Operativos Estándares de Limpieza (SSOP) y Evaluación de Riesgos por Puntos Críticos de Control (HACCP), que en conjunto aseguran la inocuidad de los productos para la salud de los consumidores. También se toma

especial atención en lo relacionado con el cuidado del medio ambiente a través de un adecuado tratamiento de efluentes (Patrone et al., s.f).

A lo largo de los años la producción agropecuaria se ha ido intensificando, lo que tiene como consecuencia la acentuación de problemas sanitarios. La mortalidad anual estimada de vacunos en Uruguay es de 3 millones, dentro de los que se encuentran las diferentes categorías (Carve 850, 2019), por lo que toda técnica que brinde información respecto al estado sanitario del animal y por lo tanto nos dé la posibilidad de reducir o mantener las pérdidas en un número equilibrado será de considerable beneficio. La toma de sangre de cada animal y su análisis ofrece información valiosa, en relación a la salud y bienestar del individuo, e incluso brinda información acerca del estado nutricional del mismo (Shalm, 1964).

El hemograma es un análisis completo de la sangre, que se usa para evaluar el estado de salud general y detectar una variedad de enfermedades de los animales, dentro de las que se encuentran la anemia, las infecciones y la leucosis bovina entre otras. Permite cuantificar y evaluar el tamaño y características de los glóbulos rojos (GR), que transportan oxígeno, glóbulos blancos (GB) que combaten infecciones, hemoglobina (hgb) siendo la proteína de los GR que transporta el oxígeno, el hematocrito (hto) que mide la proporción de los glóbulos rojos comparada con el componente líquido o plasma de la sangre y plaquetas (Plq) que intervienen en la coagulación sanguínea (Willard y Tvedten, 2004).

Aumentos o disminuciones fuera de los rangos de normalidad en los recuentos de células nos podrían guiar a enfermedades que a nivel de examen clínico no fueron posibles de diagnosticar con certeza, debiendo así evaluar en profundidad. Dentro de las posibles alteraciones, el hemograma nos puede indicar la presencia de anemias, o de algún proceso infeccioso, que junto a la clínica, a una detallada reseña del animal y a otros métodos paraclínicos, nos permite llegar a un diagnóstico de una enfermedad, su control o supervisar un tratamiento para la misma (Willard y Tvedten, 2004).

Los valores de referencia de hemogramas utilizados en los laboratorios del país son tomados de Oregon State University, del Oregon Veterinary Diagnostic Laboratory. Estos valores de referencia para ganado de carne no especifican raza, sexo, edad o categoría animal y tampoco el estado fisiológico (vacas preñadas o vacías). Por lo tanto, aproximarnos a la estandarización de los valores de referencia del hemograma en bovinos de carne de la raza Hereford, en nuestro país y en nuestras condiciones de manejo, clasificando además por categoría animal, podría ser de gran utilidad a nivel diagnóstico.

4- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1 La raza Hereford y sus características

La raza Hereford deriva su nombre de Herefordshire, condado ubicado al sudoeste de Inglaterra, y llegaron desde allí a Uruguay en 1864 (López, 1978).

Es una raza carnífera, por lo que en su desarrollo se buscó aumentar el rendimiento de carne de calidad por animal, y que su constitución siga permitiéndole sobrevivir en condiciones de gran diversidad y severidad. Cuando la alimentación es la adecuada, se busca un desarrollo rápido y sostenido, obteniendo buenas ganancias de peso sin exceso de grasa, y de esta forma obtener una res de calidad (Hereford Uruguay, 2021 b).

El Standard de la Raza es un conjunto de características que identifican a un animal como perteneciente a la raza, debe ser un animal armonioso en sus formas, con un perfecto equilibrio en las distintas partes del cuerpo. Debe presentar facilidad de desplazamiento, para procurar el alimento, y aplomos correctos, los cuales son fundamentales en la función reproductiva (Hereford Uruguay, 2021).

La intensificación de la producción/ha conlleva a más problemas sanitarios, por esto la importancia de los estudios en sangre como herramienta para diagnósticos (Herrera, 2019).

4.2 La sangre

La sangre es un tipo de tejido conjuntivo, esencial para mantener el correcto equilibrio de electrolitos y agua, para el control de la temperatura y para el funcionamiento del sistema inmunológico, que es el mecanismo de defensa del organismo (Voigt, 2003).

A través de la circulación, las principales funciones de la sangre son:

- Transporte de oxígeno.
- Transporte de sustancias absorbidas o generadas en el organismo.
- Excreción de residuos del metabolismo celular.
- Transporte de leucocitos, anticuerpos y sustancias protectoras.
- Transporte de hormonas entre órganos.
- Actividad en el equilibrio acuoso.
- Regulación térmica
- Regulación de la presión osmótica, del equilibrio ácido-base del organismo y regulación del equilibrio iónico.
- Por su volumen también interviene en el mantenimiento de la presión arterial.

Mediante estas funciones la sangre es uno de los principales medios de los que se vale el cuerpo para funcionar como un conjunto, una unidad o integración funcional (Gutnisky, 1980).

Está compuesta por diversas células, rodeadas por una sustancia extracelular, llamada plasma. Si se evita la coagulación de la sangre extraída mediante la adición de un anticoagulante, la sangre se separará en sus distintos componentes, esto se logra dejándola reposar o acelerando la separación en la centrífuga. Aparecerán tres capas diferenciadas: los pesados glóbulos rojos en el fondo, los glóbulos blancos y las plaquetas en el medio, y el plasma líquido en la parte superior (Voigt, 2003).

Dentro de las distintas alteraciones de la función normal de la sangre, podemos encontrar una disminución del volumen de la sangre circulante y/o anomalías de los constituyentes celulares o de los no celulares como son las proteínas, los electrolitos y los sistemas amortiguadores (Blood y Henderson, 1976).

La hematología es de gran utilidad en el campo de la medicina veterinaria clínica (Schalm, 1964). Es el estudio de la sangre y de los tejidos que forman, acumulan o hacen circular las células sanguíneas (Voigt, 2003). El médico veterinario debe seleccionar varias técnicas de examen sanguíneo cuyos resultados, combinados con los antecedentes y el estudio clínico, proporcionan valiosísima información diagnóstica (Schalm, 1964).

4.3 Obtención y manejo de la sangre

Una obtención y/o manipulación incorrecta de la muestra puede conducir a resultados pocos fiables o erróneos, por lo que todo análisis de sangre comienza con una obtención de la muestra adecuada (Voigt, 2003).

Para obtener una muestra de sangre y realizar el hemograma en grandes animales, el procedimiento consiste en recoger 5 ml de sangre directamente de la vena yugular o vena coccígea en un tubo que contiene la cantidad adecuada de anticoagulante. Se introduce primero la aguja en la piel y luego en la vena ingurgitada y se recoge directamente la sangre hasta el nivel estipulado en el tubo con anticoagulante (Schalm, 1964). Si no se usa anticoagulante, luego de 2 a 5 minutos de la extracción, la muestra comenzará a formar coágulos, esto ocurre siempre que la sangre se encuentre con una sustancia que no sea el endotelio de los vasos sanguíneos. Para el estudio del número total y la proporción de células, así como su morfología y las transformaciones que sufren, se necesita prevenir la formación del coágulo para que las células queden en suspensión (Voigt, 2003). Por lo tanto, cualquier coágulo visible en una muestra de sangre elimina la confiabilidad de los recuentos celulares, ya que impide la distribución uniforme de las células en la sangre (Willard y Tvedten, 2004).

La heparina es un anticoagulante natural presente en diversos tejidos, y se encuentra en gran cantidad en el hígado de donde viene su nombre. Actúa impidiendo la coagulación sanguínea porque evita la conversión de la protrombina en trombina. No modifica el volumen eritrocítico y, por consiguiente, es adecuada para el examen del hematocrito, pero tiene la desventaja de que dificulta la tinción de los leucocitos (Schalm, 1964). A su vez, puede causar aglutinaciones de glóbulos blancos dejando inutilizada la muestra para realizar y leer frotis; e interfiere con las pruebas de tiempo de protrombina (Voigt, 2003). Otra desventaja es que la heparina produce una mala coloración con fondo azul difuso (Willard y Tvedten, 2004).

En relación al ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) es el anticoagulante más frecuentemente utilizado en la hematología de rutina, ya que tiene varias ventajas respecto a la heparina. No modifica el tamaño del glóbulo rojo; la velocidad de sedimentación de los eritrocitos no cambia durante las primeras seis horas con la muestra a temperatura ambiente, o por veinticuatro horas si las muestras se conservan refrigeradas (Voigt 2003); la tinción de los leucocitos es excelente; y la integridad celular se conserva seis o más horas (Schalm, 1964). El mecanismo de acción de casi todos los anticoagulantes es fijarse al ion calcio, que es esencial para el proceso de coagulación, a excepción de la heparina como fue descrito anteriormente (Voigt, 2003).

En el mercado se encuentran tubos que contienen anticoagulantes con las cantidades apropiadas en relación a su tamaño. El tipo de anticoagulante se distingue por medio del color del tapón de goma del tubo: EDTA-violeta, heparina-verde, oxalatos-negros, citratos-azul (sin embargo siempre hay que leer la etiqueta porque algún color del tapón del tubo puede variar según la empresa fabricante). Los tubos con tapa roja en general no contienen aditivos o anticoagulantes, y se suelen llamar tubos secos (Voigt, 2003).

Los frascos comerciales para la recolección de sangre contienen vacío y se debe permitir que se llenen hasta que el flujo se detenga. El llenado excesivo del tubo puede conducir a coagulación de la sangre, mientras que el llenado incompleto determina una concentración excesiva de EDTA, que conduce a una contracción de los GR y reduce el volumen celular aglomerado (VCA) (Willard y Tvedten, 2004).

La mezcla de la sangre con el anticoagulante siempre debe realizarse aproximadamente una docena de veces y sin brusquedad, pues de otro modo se rompen los glóbulos rojos provocando hemólisis en la muestra. Cuando el tubo con sangre se deja en reposo, se verifica la separación de células y plasma (Schalm, 1964).

Si la sangre con EDTA no se analiza en el término de 2 a 3 hs, se la debe refrigerar a 4°C, ya que los GR se hinchan después de 6 - 24 hs de almacenamiento (Willard y Tvedten, 2004). Es importante mencionar que el hemograma tiene cambios mínimos en sangre refrigerada hasta 24 horas de extraída la muestra.

4.4 Hemograma: Técnica de recuento manual de células hemáticas

El hemograma es un perfil de pruebas de los elementos que componen la sangre (serie roja, serie blanca y recuento plaquetario) y debe ser evaluado de forma sistemática (Willard y Tvedten, 2004). Se compone de datos cuantitativos (total de células, conteo diferencial de células e índices eritrocitarios) y cualitativos (morfología y tamaño de las células sanguíneas, tipo y fase del desarrollo, presencia o ausencia de hemoparásitos). La interpretación adecuada del hemograma depende de la integración de ambos componentes (Rebar et al., 2015).

El recuento manual requiere de la utilización de volúmenes de muestra muy pequeños, debido a que en un milímetro cúbico de sangre hay miles de leucocitos y millones de eritrocitos. Se utilizan también técnicas muy precisas de dilución y un

instrumento calibrado de recuento, la cámara de Neubauer, que es un tipo de hemocitómetro (Voigt, 2003), que consiste en una cámara de vidrio transparente que contiene una suspensión de células y que se lee bajo un microscopio. Esta cámara de vidrio tiene una profundidad de 0,1mm y está subdividido en subunidades por un retículo con una superficie exacta de 3mm x 3mm. Ambas subunidades deben ser llenadas y contadas, y el número de células de cada uno debe variar en menos del 10% para los GB y menos del 20% para el recuento de GR (Willard y Tvedten, 2004). En el caso de que haya una diferencia mayor a 25 células entre áreas, deberá limpiarse, secarse y recargar la cámara nuevamente (Voigt, 2003).

Para facilitar el recuento, la sangre se diluye primero en una pipeta Unopette. El grado de dilución depende del tipo de células a medir. El objetivo es obtener una concentración de células ni muy densa, ni muy diluida, para lograr un recuento celular uniforme (Willard y Tvedten, 2004). Se llenan las dos subunidades y se deja reposar la muestra en la cámara durante 2-3 minutos, para permitir que las células se asienten en un solo plano sobre la retícula, luego se observa con el menor aumento del microscopio y con iluminación reducida. El técnico debe contar de forma ordenada, para evitar saltarse células o contar más de una vez la misma (Voigt, 2003). Para el recuento de GR, la sangre se diluye 1:200. Como la sangre contiene menos GB que GR, la dilución para los GB es por lo general 1:20 (Willard y Tvedten, 2004).

La porción de la retícula en la cual se realiza el recuento difiere para cada tipo celular. Debido a la elevada cantidad de GR en sangre, se cuenta solo un quinto de milímetro cuadrado ($0,2 \text{ mm}^2$) en el centro del retículo. Para el recuento de GB se cuentan los 4 casilleros externos. En el caso de plaquetas, se evalúan 2 casilleros (Willard y Tvedten, 2004).

- Para el recuento de glóbulos rojos se toman cinco grupos de 16 casillas, ubicados en el cuadrado central, no consecutivos, generalmente se utilizan las cuatro esquinas y el centro (Figura N1). Se comienza centrando la primera área para el recuento celular, que suele ser la superior izquierda. Al observar, un grupo de 16 casillas debería estar llenando el campo óptico, el técnico debería contar todas las células de la primera casilla, continuando por la parte superior, la segunda, la tercera y la cuarta casilla, bajando luego hasta la segunda fila y contando hacia la izquierda, en un patrón de zigzag. Se cuenta toda célula dentro de la casilla y las que estén en contacto con el borde superior o izquierdo, ya sea que esté la mayoría de la célula en el interior o en el exterior de la casilla (Voigt, 2003).

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).

Por lo tanto:

GR/mm^3 : N° de células x N° de cuadrados x profundidad de la cámara x dilución.

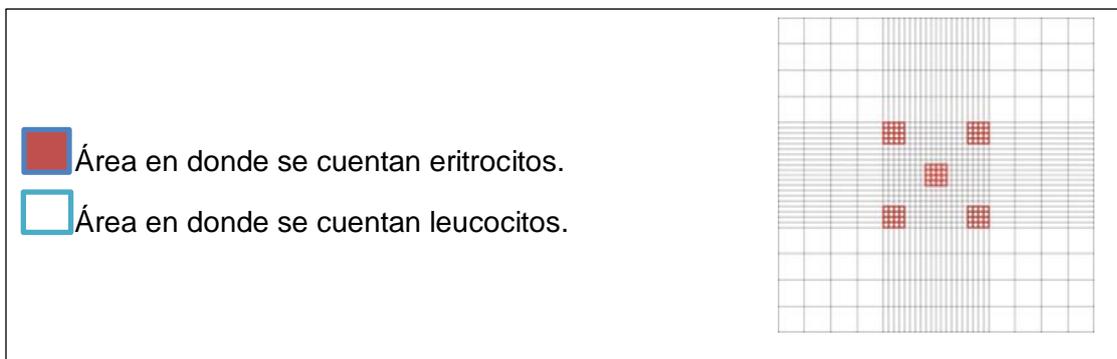


Figura 1: Cámara de Neubauer.

- Para el recuento de los leucocitos, las áreas en las que se deberá efectuar el mismo dependen de la técnica de dilución utilizada. Si se utiliza una dilución de 1:20, efectuaremos el recuento en los cuatro cuadrados grandes, de 1mm x 1mm, de las esquinas. En cambio, si utilizamos una dilución de 1:100, el recuento será de los nueve cuadrados grandes. El recuento se realiza de la misma manera, y utilizando el mismo criterio que para el conteo de eritrocitos (Voigt, 2003).

El procesamiento de los resultados obtenidos variará según las técnicas de dilución y de recuento empleadas (Voigt, 2003).

GB/mm³: N° de núcleos x N° de cuadrados x profundidad de la cámara x dilución

- Para una dilución de 1:20
N° de núcleos x $\frac{(10 \times 20)}{4}$
- Para una dilución de 1:100
N° de núcleos x $\frac{(10 \times 100)}{9}$

4.5 Hemograma: Contadores automatizados para hematología–Contadores de impedancia

Los recuentos celulares obtenidos por medio de métodos automáticos son altamente precisos en comparación con los métodos manuales si se realizan los ajustes apropiados en la calibración del equipo para los tamaños celulares de las distintas especies (Voigt, 2003). Los contadores de impedancia cuentan número de células, miden su tamaño y calculan de forma matemática el Hto, la CHCM y la HCM (Willard y Tvedten, 2004); sin embargo, no son muy acertados en el conteo diferencial de leucocitos (principalmente de granulocitos como son los neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y no reportan cambios en la morfología celular. Por tal motivo un analizador hematológico no es suficiente para realizar un hemograma completo y

una fracción de la muestra deberá ser examinada por un técnico mediante la realización y observación al microscopio de un frotis (Barger y MacNeil, 2015).



Figura N° 2: Contador automatizado para hematología.

4.6 Frotis de sangre

El frotis sanguíneo se utiliza para determinar el tipo de células, su cantidad relativa, tamaño, forma, fase del desarrollo, profundidad de la tinción, y/o alteraciones en las cualidades de las mismas, e inclusiones celulares (Voigt, 2003). Por ejemplo, el conocimiento de la morfología de los glóbulos rojos es indispensable para entender la naturaleza de un proceso anémico, y el recuento diferencial de los leucocitos es de utilidad tanto en el diagnóstico como en el pronóstico de algunas patologías (Schalm, 1964).

El frotis se debe preparar de inmediato y secar al aire para evitar los defectos causados por la exposición de las células a los anticoagulantes y su deterioro durante el almacenamiento y el transporte (Willard y Tvedten, 2004).

4.6.1 Técnica de frotis

El portaobjetos debe estar limpio y seco, es recomendable sumergir el portaobjetos en alcohol y limpiarlo con un paño o papel antes de utilizarlo y tocarlo únicamente por los bordes (Voigt, 2003).

Es importante lograr en el frotis un área delgada donde las células se distribuyan en una monocapa logrando así una mejor coloración, y que permita realizar una buena evaluación de los detalles citoplasmáticos y nucleares de las células (Willard y Tvedten, 2004).

Método del portaobjeto: se coloca un portaobjeto limpio sobre una superficie horizontal y se deposita una pequeña gota de sangre bien mezclada cerca de uno de sus extremos. Se extiende la misma en una película uniforme con la ayuda de otro portaobjeto (Schalm, 1964). El ángulo en que se sostiene el portaobjeto extensor determina el grosor de la película sanguínea; por lo tanto, cuanto mayor es el ángulo, más grueso es el frotis (lo ideal es un ángulo de 30 grados) (Schalm, 1964). También el tamaño de la gota es importante para el grosor final del frotis y se aprende con la experiencia y la realización de varios (Voigt, 2003).

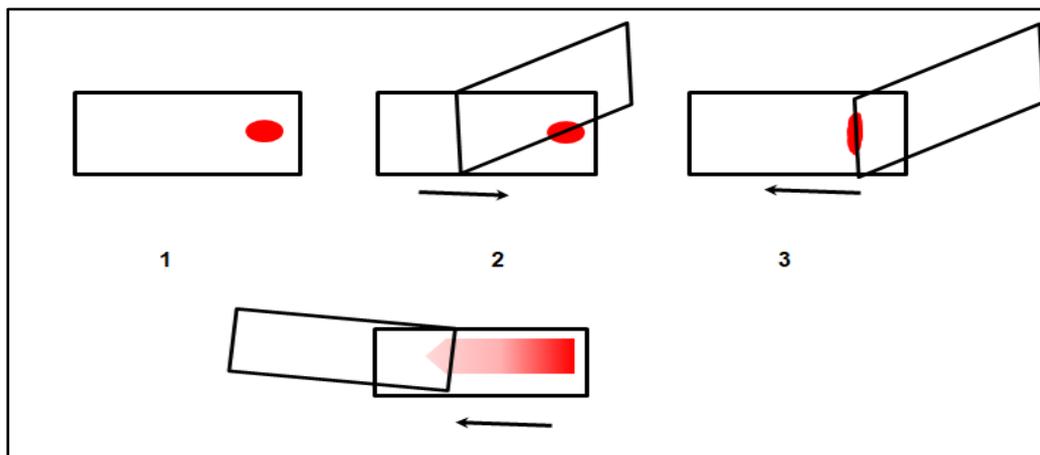


Figura 3: Técnica de portaobjetos para la preparación de un frotis de sangre. 1, 2, 3: pasos a seguir.

Una vez realizado el frotis de sangre, el portaobjetos se mueve en el aire para acelerar su secado, ya que si este secado es muy lento en el tiempo, sale agua de los eritrocitos y conduce a la crenación de los mismos. Por lo tanto, una película delgada y un secado rápido son indispensables para obtener un frotis perfecto (Schalm, 1964).

4.6.2 Tinción del frotis de sangre

Los frotis se deben teñir inmediatamente, de no ser posible, se deben guardar en sitios protegidos y hacer la tinción en las veinticuatro horas siguientes para obtener mejores resultados (Schalm, 1964). La tinción del frotis cumple el propósito de colorear las células y hacerlas más visibles, permitiendo de esta forma la identificación de los distintos tipos celulares (Voigt, 2003).

Romanowsky (1891) fue el primer investigador que combinó la eosina y el azul de metileno para teñir la sangre, esta combinación suele denominarse tinción de Romanowsky modificada (Schalm, 1964). Para realizar este tipo de tinción, las

muestras se fijan con metanol. 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) de color azul- púrpura. Las estructuras celulares básicas, incluyendo la mayoría de las proteínas celulares, se unen al colorante aniónico y se tiñen de rojo (Barger y MacNeil, 2015).

Por otro lado, las tinciones de Wright y Giemsa son la base de casi todas las tinciones de inmersión disponibles. Utilizan un colorante ácido rojo (generalmente eosina), al que atraen los componentes básicos de las células, como la hemoglobina y los gránulos citoplasmáticos de los eosinófilos, y un colorante básico o alcalino, de azul oscuro a violeta (azul de metileno), que teñirá los componentes más ácidos, como los ácidos nucleicos y los gránulos citoplasmáticos de los basófilos (Voigt, 2003).

El modo de empleo de estas tinciones consiste en sumergir las muestras en cada solución por un periodo de tiempo o un cierto número de veces, según especifiquen los fabricantes (Voigt, 2003).

4.6.3 Análisis del frotis sanguíneo

El examen de las células sanguíneas y su distribución se inicia con objetivo de gran aumento; para ello el portaobjetos donde se realizó el frotis debe recubrirse con una delgada película de aceite de inmersión antes de que pueda hacerse un examen satisfactorio.

Se observa:

- a- Grado de variación del tamaño y la forma de los eritrocitos.
- b- Número excesivamente elevado o bajo de leucocitos.
- c- Presencia y distribución de los trombocitos.

El área de monocapa es el único lugar donde debe realizarse la evaluación celular. Dos errores que se cometen comúnmente en la lectura del frotis de sangre y citológicos residen en intentar identificar células en las áreas gruesas del frotis y las células dañadas (Willard y Tvedten, 2004).

Los contadores automáticos de células no son una alternativa a la evaluación de un frotis de sangre en animales enfermos. Los contadores automáticos no identifican de manera uniforme los neutrófilos inmaduros, los cambios tóxicos en los neutrófilos, linfocitos y monocitos reactivos, basófilos, eosinófilos grises y células leucémicas; por lo tanto, la automatización es útil cuando se combinan con la evaluación del frotis de sangre y así llegar a conclusiones más completas y de mayor peso (Willard y Tvedten, 2004).

4.6.3.1 Eritrocitos

El eritrocito es la célula más común que encontramos en la sangre. Aparecen aproximadamente mil eritrocitos por cada leucocito. En la mayoría de los mamíferos es una célula redonda, homogénea y anucleada, que se tiñe desde rosa asalmonada hasta rojo (Voigt, 2003). Su función principal es transportar el oxígeno desde los pulmones hasta las células y tejidos de todo el organismo. El dióxido de carbono que generan las células lo transportan de vuelta a los pulmones (Voigt, 2003).

Los eritrocitos de los rumiantes son células anucleadas, bicóncavas, con palidez central e incapaces de moverse, siendo empujadas pasivamente a lo largo del sistema circulatorio (Jubb y Kennedy, 1973).

Su número y concentración en la sangre de los animales sanos permanecen considerablemente constantes, existiendo un equilibrio entre las tasas de formación y destrucción de los mismos (Jubb y Kennedy, 1973).

El aumento en el número de eritrocitos circulantes se denomina policitemia o eritrocitosis cuando las células son normales, y eritroleucemia cuando son neoplásicas. La disminución en el número de eritrocitos circulantes constituye la anemia (Jubb y Kennedy, 1973).

La anemia se define como disminución de hemoglobina o del número de hematíes por unidad de volumen de sangre y se evidencia por palidez de mucosas, aumento de la intensidad y frecuencia del latido cardiaco y debilidad muscular. Se describen tres tipos: anemia hemorrágica, hemolítica y debido a la disminución de la formación de glóbulos rojos (Blood y Henderson, 1976).

Anemia hemorrágica: en estos casos ocurre una pérdida de sangre aguda o crónica por el sistema vascular que produce anemia e insuficiencia circulatoria periférica. Las causas son diversas, rotura espontánea, herida traumática de un vaso, infección masiva por nematodos hematófagos (crónica), garrapatas o piojos chupadores, defectos de las paredes vasculares, defectos congénitos de la coagulación o úlceras del tubo digestivo, entre otras. Hay reducción del volumen de sangre, pérdida de las proteínas plasmáticas y pérdidas de eritrocitos. Si la pérdida de sangre no es rápida entran en función los mecanismos compensadores, liberación de la sangre almacenada en el bazo y el hígado y el paso de líquidos de los tejidos al torrente circulatorio (Blood y Henderson, 1976).

El análisis de sangre con determinación de la hemoglobina, hematocrito y conteo de eritrocitos valoran el grado de pérdida de sangre y del progreso de la enfermedad. En casos de hemorragias espontáneas sin explicación deberá procederse a la estimación del tiempo de coagulación y protrombina (Blood y Henderson, 1976).

Anemia hemolítica: se produce lisis de eritrocitos en la intoxicación hídrica por ingestión de grandes cantidades de agua por un animal sediento y con pérdida de mucha sal previamente, dada por el ejercicio prolongado o por elevadas temperaturas ambientales. La hemólisis resultante puede causar anemia hemolítica grave (Blood y Henderson, 1976).

Infecciones por protozoarios, babesiosis, anaplasmosis en rumiantes, leptospira, hemoglobinuria bacilar, hemoglobinuria post parto y envenenamiento con varias plantas crucíferas también causan una anemia hemolítica, así como las ponzoñas de serpientes causan también una forma de hemólisis intravascular aguda (Blood y Henderson, 1976).

Anemias debidas a producción insuficiente de eritrocitos o hemoglobina: son debidas a deficiencias nutricionales o también a causa de una depresión tóxica de la actividad eritropoyética de la médula ósea. Por ejemplo, las deficiencias de cobalto y cobre en la nutrición provocan anemia en los rumiantes. (Blood y Henderson, 1976).

Los signos clínicos de la anemia son observados cuando la concentración de hemoglobina se encuentra por debajo del 50%. El hematocrito y el recuento de glóbulos rojos están por debajo de lo normal. En las anemias hemorrágicas y hemolíticas hay aumento del número de eritrocitos inmaduros. La anemia por falta de hierro produce una hipocromasia. En estos casos la hemoglobina es baja, pero el recuento puede ser normal (Blood y Henderson, 1976).

4.6.3.2 Plaquetas o trombocitos

Son porciones del citoplasma de una gran célula que se encuentra en la médula ósea, el megacariocito, y presentan una gran variedad de tamaños y formas (Voigt, 2003).

Se ven como rosetas de gránulos purpúreo- rojizos, rodeados por una fina membrana. El trombocito suele ser pequeño, pero tiene formas gigantes hasta del tamaño de un eritrocito (Voigt 2003). Suelen verse en pequeños grumos dispersos o como trombocitos sueltos sobrepuestos a los eritrocitos. Pueden ser numerosos, lo que corresponde bien al tamaño de la costra flogística en el Hematocrito (Schalm, 1964).

4.6.3.3 Recuento diferencial de glóbulos blancos (Leucocitos)

Los glóbulos blancos o leucocitos son células nucleadas de diferentes tamaños, algunas contienen gránulos que se tiñen de diferentes colores. Existen cinco tipos, el neutrófilo, eosinófilo y el basófilo, presentan gránulos en su citoplasma que determinan la categoría de granulocitos, mientras que el linfocito y el monocito son agranulocitos. Los leucocitos tienen funciones diferentes, pero por lo general están relacionados con reconocer sustancias extrañas en el organismo y responder, especialmente ante los agentes potencialmente patógenos, como bacterias, virus y hongos (Voigt, 2003).

El neutrófilo es el leucocito más común en la mayoría de animales, no así en rumiantes, y es el más fácilmente reconocible. Es algo más grande que el eritrocito, y se caracteriza por un núcleo alargado de apariencia grumosa, densamente teñido, que generalmente se encuentra muy compactado (Voigt, 2003).

El eosinófilo posee núcleo en banda o dividido en dos o tres lóbulos, y su citoplasma suele ser de color azul celeste (Voigt, 2003).

El basófilo se encuentra muy raramente en las preparaciones sanguíneas. Núcleo alargado y ligeramente dentado (Voigt, 2003).

El linfocito es el leucocito más común en rumiantes y roedores. El linfocito maduro es el leucocito más pequeño, generalmente es apenas mayor al eritrocito, y posee un núcleo esférico (Voigt, 2003).

El monocito es el más grande de los leucocitos. Se caracteriza por un núcleo pleomórfico. Debido a que su principal función es la fagocitosis, en su citoplasma pueden encontrarse diversos gránulos o partículas, incluso otras células (Voigt, 2003).

El recuento leucocitario diferencial trata de determinar la distribución del porcentaje de los diferentes tipos de leucocitos en la sangre periférica. El procedimiento está sujeto a un considerable error, ya que solamente se examina una parte demasiado pequeña del número total de leucocitos. Para lograr una precisión adecuada, el número de células diferenciadas debe estar en proporción con el recuento leucocitario total. Por regla general, deben ser diferenciadas 100 células por cada 10000 del número total de leucocitos (Schalm, 1964).

Una enfermedad que produce un aumento extraordinario del número de leucocitos circulantes es la leucemia. La enfermedad es de origen neoplásico, se acompaña muchas veces de esplenomegalia, aumento del volumen de los ganglios, y proliferación de la médula ósea. En la leucemia leucémica se evidencian leucocitos inmaduros en la sangre, y en la aleucémica el recuento leucocitario total puede estar aumentado o no (Blood y Henderson, 1976).

La leucocitosis relacionada con infecciones locales o generalizadas suelen ser menos graves que la observada en la leucemia leucémica, sin que tampoco sea tan acentuada la distorsión del recuento diferencial. En estos procesos inflamatorios agudos o generalizados, hay neutrofilia con aumento relativo de las formas en banda, y en las infecciones crónicas el fenómeno manifiesto es la linfocitosis y monocitosis. Las inflamaciones locales agudas pueden causar leucopenia transitoria, por la retirada de los glóbulos blancos circulantes que acuden al foco séptico. La importancia de la leucopenia es que reduce la resistencia del animal a la infección bacteriana, con la consecuencia de una septicemia fulminante mortal (Blood y Henderson, 1976).

Es preferible hacer el recuento leucocitario con el objetivo de inmersión a gran aumento, pero con experiencia puede hacerse con gran aumento en seco. Sin embargo, los lentes de inmersión son muy necesarios para observar los gránulos azurófilos en los monocitos, la granulación tóxica en los neutrófilos y ciertos parásitos sanguíneos (Schalm, 1964).

MacGregor, Richards y Loh compararon tres métodos de recuento diferencial en frotis sanguíneos en portaobjeto. Según Schalm (1964) el método almenado (c) da los resultados más exactos.

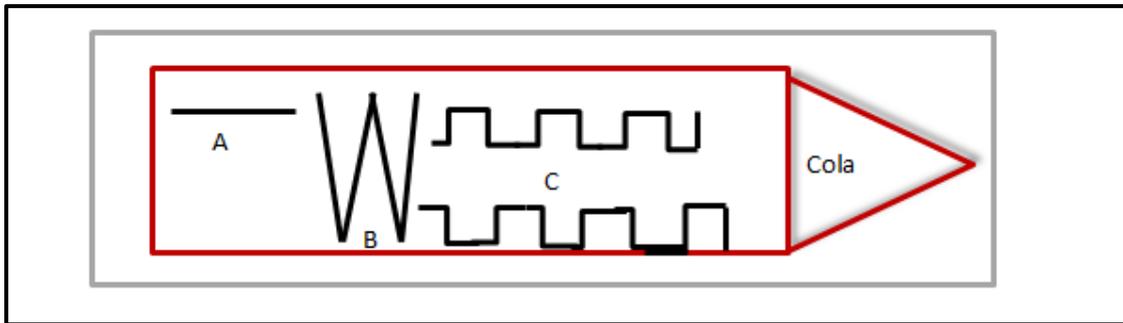


Figura 4: Tres métodos de recuento diferencial en frotis sanguíneo: A-Método del borde recto; B-Método en zigzag; C-Método de las almenas

4.7 Pruebas hematológicas de rutina

4.7.1 Volumen celular aglomerado (VCA) o Hematocrito (Hto)

La medida del porcentaje de glóbulos rojos en sangre se denomina volumen celular o volumen globular aglomerado (VCA) o hematocrito (Hto). El Hto depende del tamaño y número de eritrocitos por unidad de volumen de sangre (Schalm, 1964).

El objetivo de la prueba es determinar el porcentaje de eritrocitos que circulan por la sangre periférica en el momento de la extracción. El Hto proporciona la estimación más rápida y precisa de la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre y, junto con la valoración visual de un frotis sanguíneo, es a menudo el primer análisis de glóbulos rojos que se realiza (Voigt, 2003).

La sangre se separa por centrifugación en tres capas bien claras: la capa eritrocítica en el fondo denominada volumen globular; una capa blanca o gris de leucocitos y trombocitos situada inmediatamente por encima de la masa de glóbulos rojos que se denomina capa flogística; y una capa de plasma sanguíneo (Schalm, 1964).

Para la realización del Hto se pueden adquirir tubos capilares con un recubrimiento interior de anticoagulantes (si se obtiene la sangre directamente del animal), o simples si ya se le ha añadido anticoagulante a la muestra. Se colocan los tubos de muestras en las ranuras del microhematocrito, y si se centrifugan durante 5 minutos a 10.000 – 12.000 rpm o durante 3 minutos a 15.000 - 16.000 rpm. Con esta técnica se conseguirá la separación total y aglomeración de las células. Para los rumiantes se duplicará el tiempo de centrifugado, principalmente en oveja y cabra, ya que el menor tamaño de sus eritrocitos disminuye la velocidad de sedimentación (Voigt, 2003).

Existe anemia cuando el Hto es inferior a la cifra normal mínima de la especie y hay hemoconcentración cuando excede el máximo de los valores normales. Sin embargo, hay que tener siempre presente que un animal anémico y deshidratado,

con hemoconcentración, puede tener un Hto dentro de valores normales (Blood y Henderson, 1976).

El centrifugado de las muestras durante más tiempo del recomendado no provocará daños, ni afectará los resultados, pero si se realiza menos tiempo del indicado puede llevarnos a conclusiones altamente erróneas. También las muestras que no fueron bien mezcladas con el anticoagulante no darán resultados representativos (Voigt, 2003).

4.7.2 Determinación de la hemoglobina (Hgb)

La hemoglobina es la proteína molecular de los glóbulos rojos, responsable del transporte de oxígeno desde los capilares de los pulmones hasta los tejidos del organismo (Voigt, 2003).

Se obtiene como parte del hemograma con los instrumentos hematológicos automatizados, por métodos fotométricos a partir de los eritrocitos lisados. Éstos medirán la cantidad de luz refractada por la superficie de sangre y la transforman en concentración de hemoglobina, mostrándola como gramos de hemoglobina por decilitro de sangre (Voigt, 2003).

La Hgb puede ser un parámetro más exacto que el Hto si las células se encuentran contraídas, edematizadas o tienen un aumento de la fragilidad, pero puede ser inexacta si la lipemia interfiere con la transmisión de la luz a través del plasma durante el análisis fotométrico (Willard et al., 2004).

4.8 Índices Eritrocitarios

Describen el tamaño y el contenido de hemoglobina promedio de los GR, por lo que se utilizan para clasificar el tipo de anemia. Los contadores automatizados pueden medir directamente el volumen celular o la concentración de hemoglobina celular (Willard y Tvedten, 2004).

El Hto y la cantidad de hemoglobina en gramos por ciento, son los datos fundamentales para calcular estos índices (Schalm, 1964).

4.8.1 Volumen corpuscular medio (VCM)

Expresa el volumen del eritrocito. La unidad que se usa para medir el tamaño celular es el fentolitro (fl) (Voigt, 2003).

$$\text{VCM: } \frac{VCA \times 10}{GR(\text{millones}/\text{mm}^3)}$$

Según Voigt (2003) el VCM determina si las células están de tamaño normal (normocíticas), si son mayores de lo normal (macrocíticas) o si son menores de lo normal (microcíticas).

4.8.2 Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM)

Este índice expresa el volumen de eritrocito, en porcentaje, ocupado por la hemoglobina (Schalm, 1964).

Es decir, la concentración de hemoglobina en el eritrocito, y se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\text{CHCM: } \frac{Hb (g/dl) \times 100}{VCA}$$

El resultado se expresa en gramos/decilitros (g/dl), gramos de hemoglobina en un decilitro de eritrocitos (Voigt, 2003).

Este índice se compara con el rango normal de CHCM de la especie y de esto se denominan células de color normal (normocromicas), para valores por debajo (hipocromicas) y para valores por encima (hipercromicas), lo cual indicaría un error ya que los eritrocitos no pueden supersaturarse, debido a que ya se encuentran completamente saturados (Voigt, 2003).

4.8.3 Hemoglobina corpuscular media (HCM)

Este índice expresa el peso de la hemoglobina en el eritrocito medio de un organismo (Schalm, 1964).

Se calcula a partir de la siguiente fórmula, expresando el resultado en picogramos (pg) (Voigt, 2003).

$$\text{HCM: } \frac{Hg(g/dl) \times 10}{GR (\text{millones}/mm^3)}$$

En veterinaria se utiliza con baja frecuencia, debido a la enorme variación que tienen los glóbulos rojos (de tamaño y de contenido de hemoglobina) entre especies, (Voigt, 2003).

5- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Uruguay cuenta con un sistema pastoril, productivo, sustentable con el medio ambiente. La ganadería se realiza sobre pasturas naturales y a cielo abierto todo el año, es libre de la utilización de productos de origen animal y de hormonas, respetando las buenas prácticas de bienestar animal. Además, cuenta con un sistema de trazabilidad que implica el registro de todo el proceso productivo, lo que le provee seguridad al consumidor final. En otros países la producción se realiza mediante sistemas intensivos como lo es el feedlot, que es una alimentación basada en granos, donde los animales suelen estar estabulados y/o con movimiento restringido.

La mayoría de los laboratorios del Uruguay utilizan tablas de referencia para hematología de Oregon State University (EEUU) para bovinos de carne. Éstas tablas no discriminan raza, sexo, edad o categoría, ni estado fisiológico de los animales (vacas preñadas o vacías). Por tal motivo creemos que sería pertinente estandarizar los valores del hemograma en el ganado de Uruguay, para que sean utilizados en los laboratorios locales. Cada país debería contar con sus propios valores de referencia, ya que las condiciones ambientales de cada región en donde se desarrolla la ganadería influyen en los parámetros hematológicos de los animales.

6- HIPÓTESIS

Los valores obtenidos del hemograma de la raza bovina Hereford alimentados sobre campo natural, serán similares a los valores de referencia de los bovinos de razas carniceras utilizados en los laboratorios del país.



7- OBJETIVOS

7.1 Objetivo general

Realizar una aproximación a la estandarización del hemograma en bovinos de la raza Hereford, clínicamente sanos, alimentados sobre campo natural.

7.2 Objetivos específicos

1. Efectuar una aproximación a la estandarización del hemograma en vacas adultas vacías de la raza Hereford.
2. Realizar una aproximación a la estandarización del hemograma en vacas adultas preñadas de la raza Hereford.
3. Realizar una aproximación a la estandarización del hemograma en terneros de la raza Hereford.
4. Efectuar una aproximación a la estandarización del hemograma en vaquillonas de la raza Hereford.

8- MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se llevó a cabo en un predio particular ubicado en ruta 6, km 128 en el departamento de Florida, Uruguay. Se realizó bajo el protocolo CHEA número 1212 con fecha de aprobación 16/12/2020 por la Facultad de Veterinaria UDELAR.



8.1 Animales

Se tomaron muestras de sangre individuales de bovinos Hereford correspondiente a las siguientes categorías: 15 vacas adultas no gestantes (vacías), 15 vacas adultas gestantes (en el segundo tercio de la gestación confirmado por ecografía), 15 terneros, y 10 vaquillonas, que estaban clínicamente sanos, y con peso de acuerdo a su categoría. No habiendo tenido tratamientos sanitarios por lo menos 20 días antes de cada toma de muestras. Aquellos animales que presentaron valores de hemograma fuera de los rangos de referencia, según las referencias de la Universidad de Oregón, fueron descartados del trabajo.

Los animales contaban con identificador de trazabilidad individual obligatorio, lo que proporcionó grandes ventajas para su seguimiento. Los terneros, menores de 6 meses de edad, fueron numerados con pintura, ya que aún no contaban con identificadores de trazabilidad.

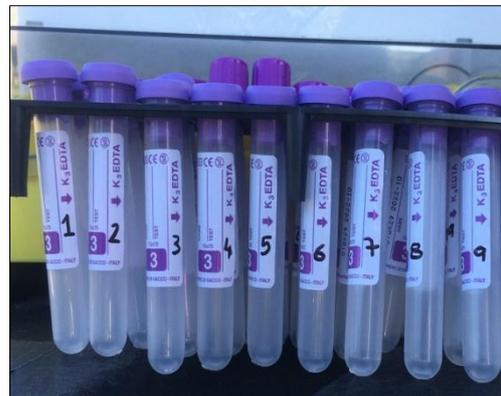
8.2 Determinaciones

El trabajo de campo se realizó en los meses de abril, mayo y junio del año 2021. En los cuales hubo temperaturas de 22°C de máxima en abril y 16°C de máxima en junio (temperaturas promedio tomadas en los días de trabajo).

Se tomaron en horas de la mañana, tres muestras de sangre, de cada animal, de todas las categorías anteriormente descritas con un intervalo de 30 días entre extracciones.

Las muestras se obtuvieron de la vena coccígea. Se utilizaron jeringas estériles de 10 cc y agujas 18G, individuales para cada animal.

La sangre colectada fue transferida a tubos con EDTA, homogeneizada y mantenida en refrigeración, para luego ser procesada dentro de las 24 horas de extraída.



8.3 Análisis de las muestras

Las muestras se analizaron en el laboratorio de análisis clínicos del Hospital de Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay.

Se registraron valores de eritrocitos, hematocrito y hemoglobina, e índices eritrocitarios: volumen corpuscular medio (VCM), contenido corpuscular medio de hemoglobina (HCM), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) y ancho de distribución de glóbulos rojos (RDW-CV). Así como, de leucocitos, linfocitos, neutrófilos, neutrófilos en banda, monocitos, eosinófilos y basófilos (valores relativos y absolutos).

Se obtuvieron también valores de plaquetas (Plq) y volumen promedio de plaquetas (MPV).

8.4 Análisis estadístico

Mediante la prueba Shapiro-Wilk se determinó la distribución de las distintas variables, presentando todas ellas distribución normal. Las significancias de las diferencias entre los grupos en los parámetros hematológicos fueron evaluados mediante ANOVA de una vía seguida de la prueba Sheffe. Las variables se expresaron en media y desvío estándar. Se presenta además un cuadro con los valores máximos y mínimos obtenidos en cada parámetro, para cada categoría.

El análisis estadístico se realizó con el programa Stata 14.2 (Statistics/Data Analysis, StataCorp LLC 2015). Se consideraron diferencias significativas cuando $p < 0.05$.

9- RESULTADOS

En la tabla 1 se presentan los valores obtenidos en el hemograma. Los terneros presentaron mayor cantidad de glóbulos rojos (GR) respecto a las categorías preñadas y vacías ($P < 0.01$), sin embargo, no hubo diferencias al compararlas con la categoría vaquillonas.

La categoría vacas preñadas presentó valores significativamente superiores de Hgb respecto a los valores de la categoría vacías y a la de los terneros ($P < 0.01$ respectivamente), no habiendo diferencias con las vaquillonas.

El valor de Hto de la categoría preñadas fue estadísticamente superior que el presentado en la categoría vacías, vaquillonas y terneros ($P < 0.01$).

Los valores de VCM y la HCM fueron estadísticamente mayores en las categorías hembras preñadas y vacías respecto a las categorías de menor edad (vaquillonas y terneros) ($P < 0.01$).

El valor de Rdw-cv fue estadísticamente mayor en terneros que en las categorías vacías y vaquillonas ($P < 0.01$).

Los valores de CHCM, GB y VPM no presentaron diferencias en ninguno de los grupos estudiados.

Respecto al comportamiento de las Plq los terneros y vaquillonas presentaron valores mayores que las categorías hembras adultas (preñadas y vacías) ($P < 0.01$).

Tabla 1. Valores de Hemograma en bovinos Hereford.

	Preñadas	Vacías	Terneros	Vaquillonas
GR (mill/μL)	7,25 \pm 1.36 a	6,67 \pm 1,38 a	8,46 \pm 1,23 b	7,56 \pm 1,42 ab
Hgb (g/dl)	13.34 \pm 1.01 a	12.13 \pm 0.85 b	11.72 \pm 1.12 b	11.50 \pm 1.33 ab
Hto (%)	37.13 \pm 2.65 a	34.09 \pm 2.35 b	32.70 \pm 2.63 b	32.52 \pm 4.05 b
VCM (fl)	53 \pm 10,34 a	53,16 \pm 10,96 a	39,33 \pm 5,48 b	44,25 \pm 9,16 b
HCM (pg)	19,02 \pm 3,68 a	18,98 \pm 4,25 a	14,11 \pm 2,27 b	15,76 \pm 3,65 b
CHCM (g/dl)	35,94 \pm 0,93	35,61 \pm 1,19	35,80 \pm 1,14	35,44 \pm 1,86
Rdw cv (%)	19.58 \pm 2.93 ab	18,27 \pm 3,15 a	21,51 \pm 3,28 b	18,31 \pm 2,42 a
GB (/mm³)	11690,7 \pm 3105,51	9555 \pm 2289,66	11333,33 \pm 4863,30	8876,19 \pm 3899,73
Plq. (/μL)	213545,5 \pm 202709 a	227350 \pm 135699,4 a	443733,3 \pm 240769 b	386428,6 \pm 222305,1 b
Mpv (fl)	6,62 \pm 0,59	6,93 \pm 0,56	6,93 \pm 0,90	6,56 \pm 0,41

Glóbulos rojos (GR), Hemoglobina (Hgb), Hematocrito (Hto), Volumen corpuscular medio (VCM), Hemoglobina corpuscular media (HCM), Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), Glóbulos blancos (GB), amplitud de distribución eritrocitaria (Rdw-cv), Plaquetas (Plq.), y Volumen plaquetario medio (Mpv) para las categorías. Distintas letras representan diferencias significativas. a-b P <0.01.

En la tabla 2 se presentan los valores relativos de cada tipo de leucocito, en cada categoría analizada.

El porcentaje de neutrófilos fue mayor en la categoría de hembras preñadas y vacías respecto a los terneros (P<0.01).

Se observó diferencia en el porcentaje de linfocitos entre terneros, vaquillonas y las categorías de hembras adultas (vacías y preñadas), siendo este valor mayor en la categoría terneros, seguido de las vaquillonas, y de las hembras de categorías mayores (P<0.01) (tabla 2).

El porcentaje de eosinófilos, fue mayor en la categoría vacías, observándose diferencia estadística entre todos los grupos analizados (P<0.01).

Los porcentajes de neutrófilos en banda, basófilos y monocitos no presentaron diferencias entre ninguno de los grupos estudiados.

Tabla 2. Recuento Leucocitario (valores relativos)

	Preñadas	Vacías	Ternereros	Vaquillonas
Neutrófilos %	29,75 ± 9,69 a	28,2 ± 9,17 a	18,94 ± 8,37 b	25,41 ± 9,46 ab
Neutrófilos en banda %	0,11 ± 0,39	0,23 ± 0,53	0,11 ± 0,40	0,18 ± 0,59
Linfocitos %	50,11 ± 8,94 a	43,98 ± 11,64 a	74,03 ± 10,28 b	60,32 ± 10,60 c
Eosinófilos %	15,5 ± 4,43 a	23,33 ± 8,57 b	3,34 ± 3,18 c	8,82 ± 3,78 d
Basófilos %	0,57 ± 0,70	0,58 ± 0,78	0,74 ± 1,04	1,27 ± 1,42
Monocitos %	3,93 ± 2,79	3,6 ± 3,10	2,91 ± 2,74	4 ± 3,07

Recuento leucocitario relativo en porcentaje (%). Se expresan como media ± desvío estándar. Diferentes literales implican diferencias significativas entre grupos $P < 0.01$.

En la tabla 3 se exponen los valores absolutos de leucocitos para cada categoría.

Tabla 3. Recuento leucocitario (valores absolutos).

	Preñadas	Vacías	Terneros	Vaquillonas
Neutrófilos (/mm³)	3535,59 ± 1526,93 a	2666,4 ± 2337,35 ab	2337,35 ± 1477,77 b	2270,381 ± 1333,88 b
Neutrófilos en banda (/uL)	18,77 ± 66,28	22,5 ± 56,84	7,6 ± 27,19	13,36 ± 44,17
Linfocitos (/mm³)	6036,57 ± 2219,35 a	4213,58 ± 1608,45 b	8058,94 ± 3977,54 c	5574,68 ± 2512,77 a-b
Eosinófilos (/uL)	1852,55 ± 775,14 a	2246,8 ± 1078,34 a	391,26 ± 352,91 b	828,5 ± 476,13 c
Basófilos (/uL)	69,23 ± 85,45	50,6 ± 64,52	76,69 ± 111,31	135,41 ± 167,32
Monocitos (/uL)	449,43 ± 337,57	347,83 ± 325,96	320,49 ± 323,05	434,77 ± 611,42

Recuento leucocitario absoluto en $\times 10^3/L$. Se expresan como media \pm desvío estándar. Diferentes literales implican diferencias significativas entre grupos $P < 0.01$.

El recuento de neutrófilos presentó diferencia significativa entre el grupo de vacas preñadas y los grupos de categorías menores (terneros y vaquillonas), siendo mayor el valor en la categoría preñadas ($P < 0.01$).

De los valores absolutos de eosinófilos se observaron significativamente mayores entre los grupos de categorías adultas (vacas preñadas y vacías) respecto al grupo de terneros y vaquillonas ($P < 0.01$). A su vez se encontraron diferencias entre el grupo de terneros y vaquillonas, siendo su valor menor en la categoría terneros ($P < 0.01$).

En la tabla 4 se presentan los valores máximos y mínimos de todos los parámetros estudiados en las distintas categorías animales.

Tabla 4. Intervalos hematológicos obtenidos en Bovinos Hereford de Uruguay. Valores mínimos y máximos para cada variable.

Test	Unidad	Vaca gestante	Vaca vacía	Terneros	Vaquillonas
GR	(mill/uL)	4.86 - 9.79	4.38 - 8.89	6.07 - 10.56	5.28 - 10.56
Hgb	(g/dL)	11.1 - 15.3	10.6 - 14.2	9.1 - 13.5	8.7 - 14.7
Hto	(%)	31.1 - 42	29.5 - 38.8	27.3 - 37.6	26.3 - 43.6
VCM	(fL)	41.9 - 72.1	38.8 - 76.5	31.1 - 49.4	34.1 - 67.5
HCM	(pg)	14.8 - 26.3	13.2 - 27.5	10.6 - 18.6	11.4 - 22.8
CHCM	(g/dl)	34.2 - 38.4	32.3 - 37.3	33.3 - 38.2	30.5 - 39.1
Rdw cv	(%)	14.3 - 24.5	12.7 - 22.5	16.2 - 27.8	13.3 - 22.1
Plq.	(/μL)	12000 - 998000	63000 - 664000	108000 - 990000	61000 - 888000
Mpv	(fL)	4.9 - 8	5.9 - 8.2	5.1 - 10.8	5.8 - 7.4
GB	(/mm ³)	5400 - 17200	6000 - 14500	4300 - 19000	4500 - 16900
Neutrófilos	(%)	10 - 51	13 - 46	9 - 41	8 - 41
Neutrófilos en banda	(%)	0 - 2	0 - 2	0 - 2	0 - 2
Linfocitos	(%)	36 - 75	22 - 75	52 - 89	38 - 86
Eosinófilos	(%)	7 - 24	4 - 45	0 - 15	3 - 18
Basófilos	(%)	0 - 2	0 - 3	0 - 5	0 - 4
Monocitos	(%)	0 - 9	0 - 13	0 - 11	0 - 11
Neutrófilos	(/mm ³)	1232 - 7052	1056 - 4785	440 - 6390	432 - 4495
Neutrófilos en banda	(/uL)	0 - 338	0 - 210	0 - 128	0 - 176
Linfocitos	(/mm ³)	2430 - 11781	1872 - 9000	1314 - 15660	2538 - 11154
Eosinófilos	(/uL)	783 - 3570	480 - 5040	0 - 1253	141 - 2032
Basófilos	(/uL)	0 - 314	0 - 243	0 - 492	0 - 508
Monocitos	(/ul)	0 - 1215	0 - 1573	0 - 1392	0 - 2794

10-DISCUSIÓN

En este trabajo se obtuvieron los valores máximos y mínimos de los diferentes componentes del hemograma discriminados por categoría. Se pretendió compararlos con los propuestos por la Oregon State University (anexo I), ya que son utilizados como referencia en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Veterinaria, sin embargo, esto no fue posible ya que los valores de referencia de dicha Universidad son considerados en razas carniceras en general, sin discriminar los valores por categorías.

Wood y Quiroz-Rocha (2010) realizan la discriminación de valores por categorías, reportando valores mayores de GR en el ganado de carne, respecto a los de razas de ganado lechero. Los valores obtenidos de GR en el ganado Hereford concuerdan con los reportados por Rosenberg et al. (1981), quienes observan que los valores de GR son más elevados en las categorías de terneros y animales jóvenes que en las categorías adultas.

Según Rosenberg et al. (1981) los GR en hembras disminuyen levemente en el transcurso de la gestación y aumentan bruscamente cerca del parto y se normalizan después de los 100 días. Esa disminución de GR durante la gestación no se observó en nuestro estudio en el grupo de vacas gestando, sin embargo, Wood y Quiroz-Rocha (2010) reportan que la preñez no causa diferencias en el recuento de GR. Se obtuvieron valores más altos en terneros, lo que según Roland et al., (2014) podría deberse a un aumento de la actividad hematopoyética en jóvenes.

Respecto a la Hgb se observaron diferencias entre el grupo de vacas preñadas al compararlo con los grupos de vacas vacías y terneros, siendo la media de Hgb en vacas preñadas mayor que en vacas vacías y terneros. Según la bibliografía consultada los terneros tienen mayor contenido de Hgb en sangre que categorías de mayor edad (Rosenberg et al., 1981), no encontrándose suficiente evidencia en la bibliografía.

Los valores de Hto del grupo de vacas gestando fueron más elevados respecto a los demás grupos estudiados, Rosenberg et al. (1981), reportan que el valor de Hto obtenido de la sangre periférica es algo mayor que el obtenido de la vena yugular o mamaria, sin embargo no reporta diferencias entre categorías.

Los valores obtenidos de VCM concuerdan con los expresados por Wood y Quiroz-Rocha (2010) quienes demuestran que desde el nacimiento hasta las 8 - 12 semanas de edad el VCM desciende hasta 37 fl, tendiendo a decaer hasta los 2 años de edad.

Los valores de plaquetas en terneros y vaquillonas fueron mayores que en las categorías vacas preñadas y vacías, lo que concuerda con Roland et al. (2014) quienes reportan que las plaquetas se presentan más elevadas en las categorías jóvenes y puede deberse a que tienen mayor actividad física que los adultos. Además, se sugiere que pueden ocurrir situaciones de trombocitosis fisiológica, producida por el estrés que sufren terneros y vaquillonas en el manejo, lo que provoca esplenotomía. Se sugiere a su vez que, menor proporción de muestra de sangre en relación a la cantidad de EDTA, o el procesamiento tardío de las

muestras puede provocar el aumento o fragmentación de las plaquetas, causando un conteo erróneo por los contadores automáticos (Roland et al., 2014).

Los resultados obtenidos de GB no presentaron diferencias entre los distintos grupos estudiados, sin embargo Wood y Quiroz-Rocha (2010) reporta que la preñez causa mínimas diferencias en el recuento de GB. Sin embargo, Rosenberg et al. (1981) mencionan que los bovinos jóvenes hasta los tres años tienen mayores valores de GB que los de mayor edad, y que además varía con la alimentación, variaciones diarias e influencia estacional, con valores mínimos en invierno.

Los valores absolutos de Neutrófilos, se observaron significativamente mayores en el grupo de vacas preñadas respecto a los grupos de terneros y vaquillonas. Wood y Quiroz-Rocha (2010) reportan que en las primeras semanas de vida los neutrófilos son predominantes en los terneros y, luego de dos semanas de vida se convierten en dominantes los linfocitos, pero estos autores no mencionan diferencias entre categorías. Se reporta además, que en el momento de producirse el parto, los corticoides endógenos aumentan debido al estrés, lo que resulta en neutrofilia (Wood y Quiroz-Rocha, 2010), situación que no es comparable con este trabajo ya que los animales del estudio estaban en su segundo tercio de gestación.

Los valores elevados de neutrófilos obtenidos en terneros, concuerdan con los reportado por Wood y Quiroz-Rocha (2010), quienes sugieren que en las primeras semanas de vida los neutrófilos son predominantes en esta categoría pasando a ser dominantes los linfocitos luego de dos semanas de vida (Wood y Quiroz-Rocha, 2010). Tornquist y Rigas (2010) describen una disminución gradual de linfocitos a medida que aumenta la edad del ganado, situación que concuerda con lo obtenido en nuestro trabajo, al observar los valores obtenidos en vaquillonas y terneros. Numerosas referencias han informado sobre los valores de referencia de linfocitos e indican pocas diferencias entre razas (Wood y Quiroz-Rocha, 2010)

Los eosinófilos disminuyen al nacer, aumentando a las tres semanas y alcanzan los niveles de un adulto a los 2 años de edad (Tornquist y Rigas, 2010). Sin embargo, Wood y Quiroz-Rocha, 2010 proponen que los eosinófilos duplican su valor desde los 6 meses de edad hasta la edad adulta. Estos autores y sus reportes coinciden con los resultados obtenidos en esta tesis, ya que a medida que aumenta la edad y pasan a las siguientes categorías, también se elevan los valores de los eosinófilos, obteniendo recuentos más bajos en terneros y más altos en adultos.

Según Rosenberg et al. (1981) la preñez avanzada no produce modificaciones en el recuento diferencial de leucocitos, solo antes del parto aumenta algo el número de granulocitos eosinófilos por el estrés del parto, sin embargo, en este trabajo, el grupo de vacas gestantes presentó una media menor de eosinófilos. Tornquist y Rigas (2010), mencionan que animales expuestos a estrés presentan cambios en el leucograma, encontrándose neutrofilia, linfopenia, eosinopenia y variable monocitosis, entonces podría explicarse que la preñez al ser un factor que desciende la inmunidad del animal, produzca la eosinopenia de las vacas gestantes, que fue encontrada en este trabajo.

Los valores relativos y absolutos de leucocitos tienden a ser similares cuando el N es considerablemente grande, en este trabajo la muestra utilizada fue mínima, por lo

que los valores relativos son en base a esa muestra de sangre tomada, en ese momento, lo que puede presentar variaciones.

11-CONCLUSIONES

En este estudio se logró la aproximación a la estandarización del hemograma en las distintas categorías (terneros, vaquillonas, vacas preñadas y vacas vacías) de bovinos Hereford alimentados a campo natural de un rodeo en particular del Uruguay.

los valores y rangos de glóbulos rojos, hemoglobina y hematocrito, así como de los índices eritocitarios (VCM, HCM, CHCM y RDW- CV) para todas las categorías de bovinos Hereford alimentados a campo natural, se encontraron dentro de los valores de referencia utilizados por Oregon State University .

Los valores obtenidos de CHCM, VCM GB, y recuento de basófilos, monocitos y neutrófilos en banda fueron similares en todas las categorías.

La diferencia presentada en los distintos parámetros entre las categorías estudiadas refuerza la necesidad de realizar tablas de referencia para estudio de hemograma discriminadas por categoría.

12-REFERENCIAS

Barger, A., y MacNeil, A. (2015). *Clinical pathology and laboratory techniques for veterinary technicians*. Ames: Wiley-Blackwell.

Blood, D. C, y Henderson, J. A. (1976). *Medicina Veterinaria*. Mexico: Interamericana.

Carve 850. (2019). *Muy leve caída del stock bovino y ovino, según cifras de Dicose*. Recuperado de: <https://www.carve850.com.uy/2019/09/16/muy-leve-caida-del-stock-bovino-y-ovino-segun-cifras-de-dicose/>

Gasque, G.R. (2008). Características generales del ganado bovino. En *Enciclopedia Bovina* (pp. 229-234). México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Gutnisky, A. (1980). Propiedades y composición de la sangre. En: B.A. Houssay, *Fisiología Humana* (pp. 10-24). Buenos Aires: El Ateneo.

Hereford Uruguay. (2021). *Características*. Recuperado de: <http://www.hereford.org.uy/caracteristicas>

Hereford Uruguay. (2021). *Standard Hereford*. Recuperado de: <http://www.hereford.org.uy/la-raza>

Herrera, V. (2019). Uso responsable de productos veterinarios. *Plan Agropecuario*, 172, 40-41. Recuperado de https://www.planagropecuario.org.uy/uploads/magazines/articles/187_2894.pdf

Instituto nacional de carnes (INAC) (s.f) *The History of Uruguayan Meats*. Recuperado de <https://uruguayanmeats.uy/history-es/the-history-of-uruguayan-meats/?lang=es>

Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA)., Plan Agropecuario., Secretariado Uruguayo de la Lana (SUL)., Facultad de Ciencias., y Facultad de Agronomía, Udelar. (2013). *Producción Animal Sostenible en pastoreo sobre campo natural*. Recuperado de https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/sites/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/files/documentos/publicaciones/libro_campo_natural_final_en_baja.pdf

Jubb, K.V.F., y Kennedy, P.C. (1973). *Patología de los animales domésticos*. Montevideo: Agropecuaria Hemisferio Sur.

Roland L, Drillich M, Iwersen M. (2014). Hematology as a diagnostic tool in bovine medicine. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 26: 592-598.

Lopez, M.A. (1978). *Bovinos Hereford*. Buenos Aires: Albatros.

Meyer, D.J., y Harvey, J.W. (2007). *Medicina laboratorial veterinaria, interpretación y diagnosis*. Barcelona: Multimédica.

Ministerio de ganadería agricultura y pesca (Mgap). (2019). *Anuario Opya*. Recuperado de: <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agriculturapesca/comunicacion/publicaciones/anuario-opypa-2019>

Patrone, J., Mateo, D., Castro, L., Ferreira, A., Ibarlucea, A., Imelio, J., ...Sparano, D. (s.f). *Manual de carnes bovinas y ovinas*. Montevideo: INAC. Recuperado de: http://www.inac.uy/innovaportal/file/2043/1/manual_corregido_2a_edicion.pdf

Quintans, G. (2013). La cría vacuna: sistema ganadero sobre campo natural. Parte 1. En *Curso Producción animal sostenible en pastoreo sobre campo* (pp. 98 – 103). Montevideo: MGAP. Recuperado de: https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/sites/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/files/documentos/publicaciones/libro_campo_natural_final_en_baja.pdf

Rebar, A.H., Mac Williams, P.S., Feldman, B.F., Metzger, F.L., Pollock, R.V.H., y Roche, J. (2015). *Hemograma, Componentes del hemograma e importancia*. Recuperado de http://www.vetlabcr.com/guia_rapida_laboratorio.pdf

Rosenberger, G., Dirksen, G., Grunder, H, D., Grunert, E., Krause, D., y Stober, M. (1981). *Exploración clínica de los Bovinos*. Buenos Aires: Hemisferio Sur.

Schalm, O.W. (1964). *Hematología Veterinaria*. México: Unión Tipográfica Editorial Hispano Americana.

- Tornquist, S.J., y Rigas, J. (2010). Interpretation of ruminant Leukocyte responses. En D.J. Weiss, y K.J. Wardrop. *Schalm's Veterinary Hematology* (6ª ed., pp. 307-313). Ames: Blackwell.
- Uruguay XXI. (2020). *Informe sectorial, agronegocios*. Recuperado de <https://www.uruguayxxi.gub.uy/es/centro-informacion/articulo/agronegocios/>
- Voigt, G.L. (2003). *Conceptos y técnicas hematológicas para técnicos veterinarios*. Zaragoza: Acribia.
- Willard, M.D., y Tvedten, H. (2004). *Diagnóstico clinicopatológico práctico en pequeños animales*. Buenos Aires: Intermédica.
- Wood, D., y Quiroz-Rocha, G.F. (2010). Normal Hematology of Cattle. En D.J. Weiss, y K.J. Wardrop, *Schalm's Veterinary Hematology* (6ª ed. Pp. 829-835). Ames: Blackwell.

ANEXOS

ANEXO I

 Oregon State University Oregon Veterinary Diagnostic Laboratory										
Document #:	Revision:	Document Title:					Status:	Active Date:		
QR-CLP-18	2	Hematology and Coagulation Reference Intervals					Active	7/29/2020		
Test	Bovine Dairy	Bovine Beef	Equine	Ovine	Caprine	Llama	Alpaca	Canine	Feline	Porcine
WBC, /uL	4000-12000	4000-12000	6000-12000	4000-12000	4000-13000	8000-21400	8000-21400	6000-17000	5500-19500	11000-22000
RBC, x 10E6/uL	5-10	5-10	6-12	9-15	8-18	10.1-17.3	10.1-17.3	5.5-8.5	5-10	5-7
Hemoglobin, g/dL	8-15	8-15	10-18	9-15	8-12	11.9-19.4	11.9-19.4	12-18	8-15	9-13
Hematocrit, %	24-46	24-46	32-48	27-45	22-38	27-45	27-45	37-55	30-45	36-43
MCV, fL	40-60	40-60	34-58	28-40	16-25	-	-	60-77	39-55	52-62
MCH, pg	11-17	11-17	13-19	8-12	5.2-8.0	9.6-12.0	9.6-12.0	19.3-24.5	13-17	17-24
MCHC, g/dL	30-36	30-36	31-37	31-34	30-36	-	-	32-36	30-36	29-34
Platelet count, x 10E3/uL	100-800	100-800	100-600	250-750	300-600	200-600	200-600	200-900	300-700	200-500
Reticulocyte count, %	-	-	-	-	-	-	-	0-1.5	0-1.0	-
Reticulocyte count, #	-	-	-	-	-	-	-	0-65000	0-50000	-
Neutrophil, %	15-45	15-45	30-75	10-50	30-48	16-59	16-59	60-77	35-75	20-70
Neutrophil, /uL	600-4000	600-4000	3000-6000	2000-9000	1200-7200	4711-14686	4711-14686	3000-11400	2500-12500	2000-15000
Bands, %	0-2	0-2	0-1	0	0	0-1	0-1	0-3	0-3	0-4
Bands, /uL	0-120	0-120	0-100	0	0	0-147	0-147	0-300	0-300	0-800
Lymphocytes, %	45-75	45-75	25-60	40-75	50-70	28-77	28-77	12-30	20-55	35-75
Lymphocytes, /uL	2500-7500	2500-7500	1500-5000	2000-9000	2000-9000	689-4848	689-4848	1000-4800	1500-7000	3800-16500
Monocytes, %	2-7	2-7	1-8	0-6	0-4	0-6	0-6	3-10	1-4	0-10
Monocytes, /uL	25-850	25-850	0-600	0-750	0-550	0-1009	0-1009	150-1350	0-850	0-1000
Eosinophils, %	2-20	2-20	1-10	0-10	1-8	1-30	1-30	2-10	2-12	0-15
Eosinophils, /uL	0-2400	0-2400	0-800	0-1000	50-950	687-4867	687-4867	100-750	0-750	0-1500
Basophils, %	0-2	0-2	0-3	0-3	0-1	0-2	0-2	0-1	0-1	0-3
Basophils, /uL	0-200	0-200	0-300	0-300	0-120	0-298	0-298	0-140	0-200	0-500
Plasma protein, g/dL	6.0-8.0	6.0-8.0	6.0-8.5	6.0-7.5	6.0-7.5	5.7-7.3	5.7-7.3	6.0-7.5	6.0-7.5	6.0-8.0
Plasma fibrinogen, mg/dL	100-600	100-600	100-400	100-500	100-400	100-500	100-500	-	-	200-400
PT, seconds	-	-	11.4-13.9	-	-	-	-	7.7-9.2	9.7-15.1	-
PTT, seconds	-	-	29.3-39.5	-	-	-	-	9.5-13.5	10.6-16.7	-
D-Dimer, ng/dL	-	-	0-186	-	-	-	-	0-163	0-150	-

Fuente: Oregon State University. College of Veterinary Medicine. Veterinary Diagnostic Laboratory.