

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA

UNAN-LEON

ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA



Tesis para optar al título de:

Licenciado en Medicina Veterinaria

DETERMINACION DE VALORES HEMATOLOGICOS EN CABALLOS DE TRACCION EN LA CIUDAD DE LEON EN EL PERIODO NOVIEMBRE 2004-MAYO 2005.

PRESENTADO POR: Br. Pedro Antonio Caballero Membreño.

Br. José Luis Soto Rivas.

TUTOR: Dr. Migdonio Quintanilla Darce.

ASESOR: Lic. Rubén Carballo Manzanares.

León 1 de julio del 2005.

Resumen

El estudio se realizó en la ciudad de León durante el período noviembre 2004 – mayo 2005, para efecto del estudio el período se dividió en tres épocas pasto verde lluvia normal (PV/LLN), pasto verde poca lluvia (PV/PLL), pasto seco sin lluvia (PS/SLL). Se determinaron los valores hematológicos: Glóbulos rojos (GR), Glóbulos blancos (GB), Hematocrito (Hto.), volumen corpuscular medio (VCM), Proteínas plasmáticas totales (PPT), Fibrinógeno (Fib.), Neutrófilos (Neut.), Eosinófilos (Eos.), Basófilos (Bas.), Linfocitos (Linf.) de los caballos de tracción bajo condiciones climáticas descritas y de manejo en la que estos se encuentran, tomando como referencia tabla de valores internacionales, la cual proviene de análisis realizados con animales especializados y en mejores condiciones que los caballos en estudio. Esto se realizó a través de refractometría, conteo celular, tinciones, y microhematocrito. Para conocer la situación real del grupo seleccionado (muestra), se utilizó una encuesta con el propósito de obtener datos sobre la alimentación, estado sanitario y tipo de trabajo que estos realizan en las tres épocas en que se realizó el estudio, aplicando vitaminas y desparasitantes en cada una de ellas posterior a la toma de muestra. Los valores obtenidos del procesamiento de las muestras sanguíneas de los caballos, fueron analizados a través de un diseño completamente al azar en el que se reveló que la cantidad de glóbulos rojos en la primera época fue mayor (5.94×10^{12} g/l) no siendo así en las otras dos en las cuales disminuyeron consecutivamente, hallándose las tres inferiores a los de referencia, el valor hematocrito y el VCM no presentaron significancia entre épocas, encontrándose para el primero, el valor más alto de 29.84% en la primera época, que es inferior al de la literatura, por el contrario el valor más alto del VCM es de 62.53 fl, superior al referido en la bibliografía. De igual manera glóbulos blancos, fibrinógeno y eosinófilos, no presentaron diferencia significativa entre épocas y sus medias están en el rango. Con respecto a las proteínas plasmáticas totales (PPT) en la primera época se observó la mayor concentración (7.35×10 g/l) siendo inferior en las otras sin embargo sus medias están normales. El análisis estadístico demuestra que existe diferencia significativa para las variables (glóbulos rojos, linfocitos, basófilos, neutrófilos y

proteínas plasmáticas totales) en las tres épocas, pero el comportamiento observado es el esperado y que esta relacionado con las épocas aunque es baja.

AGRADECIMIENTOS

A, Dios nuestro señor quien nos ha dado la vida y es la luz que nos ilumina cada día y es fuente de toda sabiduría.

A, nuestro tutor Dr. Migdonio Rafael Quintanilla Darce, por habernos guiado para realizar nuestra investigación.

A, nuestro asesor Lic. Rubén Carballo Manzanares por ayuda en el análisis estadístico de nuestro trabajo.

Agradecemos especialmente a la Dra. Ligia Hernández por su valiosa colaboración en la investigación de nuestro trabajo.

Agradecemos a todas las personas que nos brindaron su ayuda en la realización de nuestro trabajo, de una forma especial al Sr. Julio Mercado encargado del laboratorio de patología.

Dedicatoria

A, mis padres Juanita Rivas y Luis Gregorio Soto, en especial a mi madre por haber cultivado en mí un ser emprendedor, por su amor incondicional y por haber confiado en mí.

A, mis hermanos a quienes al mismo tiempo les motivo a que sean emprendedores.

A, mis abuelos, porque lo que hoy estoy logrando era un anhelo para ellos hecho realidad.

A, todos las personas que confiaron que yo podría lograrlo.

Br. José Luis Soto Rivas.

Dedicatoria

A, mis padres quienes me han apoyado y animado, y son los que han hecho posible que llegue a esta etapa tan importante de mi vida.

A, mis hermanos con quienes quiero compartir este momento y animarlos a lograr sus metas.

A, toda mi familia, tíos, primos y abuelas que me han animado y aconsejado.

Br. Pedro Antonio Caballero Membreño

Índice

1. Introducción.....	1
1.1 Planteamiento del problema.....	3
1.2 Antecedentes.....	4
1.3 Justificación.....	5
2. Objetivos.....	6
3. Hipótesis.....	7
4. Materiales y métodos.....	8
4.1 Métodos.....	8
4.2 Materiales.....	15
5. Marco teórico.....	17
5.1 Composición de la sangre.....	17
5.2 Hematocrito.....	22
5.3 Volumen corpuscular medio.....	23
5.4 Proteínas plasmáticas totales.....	24
5.5 Fibrinógeno.....	24
5.6 Respuesta hematológica al ejercicio.....	25
5.7 Alteraciones de las células blancas.....	27
5.8 Enfermedades eritrocitarias.....	29
6. Resultados y discusión.....	32
7. Conclusión.....	39
8. Recomendaciones.....	40
9. Referencia bibliográfica.....	41
10. Anexos.....	44
10.1 Tablas.....	45
10.2 Encuesta.....	48
10.3 Figuras.....	52
10.4 Fotos.....	53

INTRODUCCION

En nuestro país en general y León en particular los caballos de trabajo son de gran importancia para el mantenimiento de la economía de muchas familias e incluso son la única fuente de ingreso, de aquí la iniciativa del estudio para conocer los valores hematológicos de estos, utilizando técnicas laboratoriales que se explicarán en un apartado especial.

En la actualidad del total de équidos destinados a la tracción el 94.85% de sus propietarios son hombres y el restante mujeres, estas personas en su mayoría viven en los sectores urbanos de la ciudad de León. Debido a la pobre alimentación que en un 70% es basada en pastos y granos, pero por la escasez de las épocas es sustituido por desperdicios u otros, solamente el 50% presenta un estado general bueno o aceptable, el restante 50% oscila entre regular a malo.

El sobreesfuerzo físico por el exceso de carga al que son sometidos que en un 70.43% son materiales de construcción y la gran cantidad de lesiones que presentan son un indicativo del estado de salud en que se encuentran. Es muy importante destacar que sólo el 50% es desparasitado y que solamente en el 70.93% de los casos lo realizan en un rango de 0 – 3 meses. Por otra parte es importante mencionar que solamente el 47.11% son vitaminados y de estos el 71.93% los realizan cada 3 meses.

En éste estudio haremos uso de valores hematológicos que se manejan como estándar a nivel mundial, para referir los encontrados en nuestro estudio.

En nuestro país existen factores como alimentación, condiciones climáticas, tipo de trabajo, manejo, etc, que son totalmente diferentes a las de otros países, por mencionar algunas de estas diferencias, no podemos comparar un caballo de tracción animal nuestro con uno europeo especializado. Además existen otros factores propios del animal como la raza, estado sanitario, etc. que hacen variar los datos incluso

comparándolos con otros animales del mismo estudio por lo que también explicaremos estos fenómenos.

Para conocer todo lo que respecta a los cambios hematológicos es necesario conocer su propia fisiología por lo que abordaremos de manera general la fisiología del sistema sanguíneo y el efecto del ejercicio sobre éste.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

En Nicaragua no existen valores hematológicos de referencia para los caballos criollos, razón por la cual, se toman como referencia datos mundiales que resultan ser alejados de la situación real local. Al no tener datos locales se dificulta el trabajo del clínico para determinar el estado de salud del paciente

ANTECEDENTES

En las últimas décadas el estudio de los valores hematológicos de los caballos ha tenido un gran avance sobre todo en los países que tienen caballos de competencia ya que depende de este tipo de análisis conocer la condición óptima de trabajo y competencia.

Este tipo de estudio se ha realizado en Europa, Estados Unidos, Asia, África y Latinoamérica. En Nicaragua no existe evidencia bibliográfica al respecto. (Investigación en bases bibliográficas nacionales <http://www.sia.net.ni/portal/inicio>).

Según Arroyo Solera, F. y cols. 2004, los siguientes autores (J. H. Boucher y cols. (1981) J. E. Smith y cols (1989) B. M. Escibano y cols. (1995) F. Arroyo (2003) A. J. Gouveia (2003), afirman que el eritrograma se ve afectado por el ejercicio físico, produciéndose un aumento en el número de hematíes, hematocrito y hemoglobina, sin embargo hay discrepancia respecto a la evolución de los índices volumétricos. Respecto al leucograma, partiendo de valores medios sanguíneos en reposo, algo superior en potros, existe una mayor respuesta al ejercicio que en los adultos, con un predominio de linfocitos, frente a los adultos, donde el mayor porcentaje corresponde a neutrófilos segmentados.

A pesar de que en Nicaragua el caballo tiene mucho tiempo de existir y de convivir con el hombre no se ha cultivado la costumbre de realizar este tipo de estudios.

JUSTIFICACION

El 36% de los caballos en estudio tienen un estado general regular y el 14% malo, la mitad de estos animales son vitaminados y desparasitados, de estos casos aproximadamente el 70% lo hacen en periodos de 0-3 meses, un 15% de 4-6 y el resto de 7 a más meses para ambas aplicaciones. Se suma a esto la variación de la alimentación en tres épocas, compuesta de pasto y granos en la primera, de pasto granos y desperdicios en la segunda, de pasto y otros en la tercera. Además de todo esto el 92% tienen marcas de lesiones vivas o cicatrizadas, ubicándose anatómicamente el 47% en las extremidades, el resto en el tronco, cuello y cabeza.

Todos estos factores influyen en los valores hematológicos por lo que consideramos que éste estudio, además de ser el primero documentado de tal magnitud que se realiza en nuestro país, puede servir de apoyo a los médicos veterinarios que trabajan con esta especie. Esto permitiría una mejor comprensión de los resultados de los valores hematológicos de nuestros caballos criollos, ya que es muy difícil para el clínico determinar cuál es el estado correcto del paciente, cuando se tienen como valores de referencia los obtenidos de la bibliografía de otros países, entendiéndose que las condiciones de manejo y climáticas son muy diferentes a las nuestras.

OBJETIVOS

General:

- Determinar valores hematológicos de caballos destinados a la tracción en la ciudad de León en el periodo comprendido de noviembre 2004 -mayo 2005.

Específicos:

1. Cuantificar mediante el uso de técnicas laboratoriales los valores de los principales constituyentes sanguíneos de los caballos objeto de estudio.

2. Mencionar las posibles alteraciones de los valores hematológicos obtenidos de los caballos objeto de estudio.

3. Correlacionar los factores que intervienen en las variaciones de los valores hematológicos de los caballos objeto de estudio, en los distintos periodos analizados.

4. Aportar tabla comparativa de los valores hematológicos en equinos de trabajo en la ciudad de León.

HIPOTESIS

Las variaciones que se encuentren en los resultados de los valores hematológicos se deben a factores influyentes como la raza, alimentación, condiciones climáticas de nuestra región, manejo, enfermedades y al ejercicio; estas variaciones, resultan iguales a aquellas presentadas por caballos de otras latitudes, tales como América, Asia, África, Oceanía y Europa, por lo que decimos que no existe diferencia significativa entre los valores hematológicos de los caballos nuestros y de los de otros países.

MATERIALES Y METODOS

METODOS

Se hizo un estudio para determinar los valores hematológicos de caballos usados en tracción animal en la ciudad de León que se encuentra a unos 20 Km. de la costa pacífica en una posición geográfica de 12° 26' al norte (latitud) y 86° 53' al oeste (longitud) (Inmonica.com), durante tres épocas, en el periodo de noviembre 2004-mayo 2005. En el que se tiene como objeto de estudio las variables de análisis: GR, GB, PPT, Hto., Linf., Eos., Bas., Neut., Fib. y el VCM.

En un principio se trabajó con 111 caballos (universo), todos machos, para conocer la situación general y orientar nuestro trabajo, ya que no existe evidencia de estudios anteriores en nuestro país. Para la recolección de información se utilizó el instrumento encuesta (anexos), obteniendo información como: tipo de carga, alimentación, estado sanitario, etc. Una vez conociendo la situación se calculó una muestra significativa de 43 caballos valiéndose de un muestreo aleatorio simple, esto por condiciones económicas y capacidad laboratorial utilizando el programa informativo Win Episcopo 2.0. (<http://www.clive.ed.ac.uk/winepiscopo>)

Se hicieron 3 muestreos en diferentes épocas, pero con el mismo grupo de animales, el primer muestreo inicia en noviembre que comprende la época PV/LLN, se encontró que algunos de los caballos estaban desparasitados y vitaminados, sin embargo se aplicó vitaminas y desparasitante post extracción de sangre (extracto de hígado y fenbendazol al 15%) respectivamente. La siguiente toma de muestras inicia en febrero con la época PV/PLL, también se aplicó vitaminas y desparasitante. De igual manera para la última extracción que se realiza en marzo con la época PS/SLL. Los caballos en estudio se encuentran distribuidos en los principales puntos comerciales de la ciudad (Sutiava, Blandón Moreno, Santa fe, Proquinsa, Estación, Terminal, Cayetano Munguía, Malinche, Zafiro). Los caballos son de raza criolla, no tienen cuidados

veterinarios, encontrándose enteros y castrados, En este estudio los caballos varían en edad, tamaño y peso.

Tipo de estudio:

Estudio longitudinal prospectivo, con análisis comparativo de medias. (Thrusfield, M., 1990)

ANÁLISIS DE DATOS

Los datos del estudio se analizaron a través de un Diseño Completamente al Azar (**DCA**), el cual ayudará a determinar si existen diferencias entre épocas, para sus respectivas variables de estudio antes descritas; procediendo con su modelo aditivo lineal que se presenta de la manera siguiente.

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij} \quad \text{Donde;}$$

Y_{ij} = Es la j-ésima observación bajo los efectos de la i-ésima época.

μ = Es la media general para todos los datos.

α_i = Efecto de la i-ésima época sobre la j-ésima observación.

ε_{ij} = Efecto del error experimental.

En caso de presentarse diferencias significativas entre factores, así como entre sus respectivas interacciones, se procederá a un análisis de separación de medias a través del método de Diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, el cual se calcula de la siguiente manera:

$$LSD = t_{\alpha/2} \sqrt{S^2_w (1/n_i + 1/n_j)}$$

Donde:

S^2_w = cuadrado medio del error (Cme)

n_i = el tamaño de la muestra i.

n_j = el tamaño de la muestra de la población j.

Para determinar si los datos encontrados concuerdan con el verdadero comportamiento de la población, se procederá a un análisis de Chi-Cuadrada a través de una tabla de contingencia (10 x 3), diez filas y tres columnas, cuyo cálculo se llevará a cabo a través de:

$$X^2 = \sum (n_{ij} - E_{ij})^2 / E_{ij}$$

Donde;

X^2 = Es el valor calculado de X^2 – Cuadrada.

n_{ij} = Es el valor observado desde el estudio.

E_{ij} = Es el valor esperado sobre el estudio.

Siendo:

r = Número de filas.

c = Número de columnas.

E_{ij} = [(Total de “r”)(Total de “c”)] / Total de datos.

De presentarse diferencia significativa entre épocas y determinar si los valores encontrados concuerdan con el verdadero comportamiento de la población, se realizará una correlación para conocer si la variación de los valores hematológicos es influenciada por los diferentes periodos del estudio. (Lyman Ott, 1987)

Cuya formula es la siguiente:

$$C = \sqrt{[X^2/(X^2 + N)]}$$

Donde:

C = coeficiente de contingencia.

X^2 = Ji- cuadrada calculada.

N = número de observaciones en el estudio.

TOMA DE MUESTRA DE SANGRE

La sangre se extrajo de la vena yugular tras provocar su ingurgitación por presión digital. El lugar de punción se situó en el tercio medio del cuello, se desinfectó la zona y se realizó venopunción con aguja desechable calibre 18, en dirección primero longitudinal y luego perpendicular al vaso. Una vez tomada la muestra, se procedió a vaciarla en tubos de ensayo de 5 ml que contienen ácido etilendiaminotetracético (EDTA) 1-2 mg/ml de sangre, se homogenizó y se identificó para el posterior análisis sanguíneo.

El EDTA se utilizó porque produce menos daños a las muestras sanguíneas. Tiene un doble efecto de anticoagulante, formando complejos insolubles con el calcio o inhibiendo el factor V de la coagulación. La concentración óptima en cada tubo es de 1-2mg/ml.

Preserva bien la sangre mantenida en nevera durante 24 horas, o a temperatura ambiente durante 6 horas, conserva bien las células y sus características, pudiendo emplearse para todas las determinaciones hematológicas, evita la formación de agregados plaquetarios y es el anticoagulante de elección para el recuento de trombocitos.

A concentraciones superiores a los 2mg/ml provoca salida de agua de los hematíes y reducen significativamente el valor del hematocrito, produce vacuolización de los neutrófilos. Las muestras de sangre que tienen más de 6 horas a temperatura ambiente dan como resultado un incremento del hematocrito y del volumen corpuscular medio y un descenso en la concentración de hemoglobina corpuscular media y en la velocidad de sedimentación. (Gómez Piquer, José y Cols. 1992.)

EVALUACIÓN DE LA SERIE BLANCA

Mezclar la muestra y continuar procedimiento según Bouda, Jan y Cols. 2003. Se contarán a menor aumento (objetivos 10x) los glóbulos blancos contenidos en 64

cuadriculas: los cuatro grupos de 16 cuadrados cada uno y que están situados en los extremos del retículo de la cámara de Neubauer, representado por las siguientes letras (B1; B2, B3 Y B4). Estas cuadriculas se examinan en un orden fijo, iniciando por el extremo superior izquierdo y siguiendo una trayectoria en zig-zag hasta haber contado todas las células contenidas en las 16 cuadriculas, repitiendo la misma operación en los cuatros extremos del retículo. Figura 1. (Anexo)

Para obtener el número total de leucocitos se suman todas las células contadas, se multiplican por 50 y se dividen entre 1000, para obtenerlos en unidades internacionales. (Bouda, Jan y Cols. 2003)

EVALUACION DE LA SERIE ROJA

El recuento manual de los glóbulos rojos necesita de un diluyente y de la cámara de Neubauer, diluir hasta 1/200. Se cuentan las células que están dentro del área de recuento y si caen en los bordes se recomienda contar las células que estén sobre dos de los bordes, ejemplo el superior y el derecho y no así los que estén sobre los otros dos, el inferior y el izquierdo. (Gómez Piquer, José y Cols.1992)

En el centro del retículo de la cámara de Neubauer hay un cuadrado primario central que se subdivide en 25 cuadrados secundarios, cada uno de los cuales a su vez se divide en 16 cuadrados terciarios que se utilizan para el recuento de glóbulos rojos. Para el conteo se toman 5 cuadrados secundarios, eligiendo los cuatro de los extremos y el central representados con las literales (R1; R2; R3; R4; Y R5). Figura 1. (Anexo). Se calcula el total sumando las células de las 80 cuadriculas y se desplazan dos decimales hacia la izquierda. (Bouda, Jan y cols. 2003).

EXTENSION SANGUINEA

Se Utilizaron portaobjetos de bordes biselados y previamente desengrasados con alcohol de 95°, bien limpios y secos para evitar alteraciones. Se coloca una gota de sangre en un extremo del portaobjetos y con el extremo de otro sobre la gota con un

ángulo de 30° una vez se haya extendido por capilaridad en el extremo, se desliza el porta superior hacia delante formando una película delgada, dejando secar al aire libre. Figura 2. (Anexo).

Para observar estas células se hizo uso de la tinción de Wright, que se realiza de la siguiente manera: cubrir el frotis con el colorante Wright sin diluir (20 a 25 gotas) dejándolo de 1 a 3 minutos y tras ello agregar igual cantidad de agua, que se mezcla con el colorante soplando ligeramente a través de la pipeta; dejarlo actuar 3 – 5 minutos más. Lavar con agua abundante y dejar cubierta la preparación con el agua durante aproximadamente medio minuto, desechar el exceso de agua y dejarla secar. (Gómez Piquer, José y cols.1992.)

RECUESTO DIFERENCIAL DE LAS CELULAS BLANCAS

La observación microscópica debe hacerse con el objetivo de inmersión (x100), habiendo colocado previamente sobre la preparación una gota de aceite de inmersión y se cuentan en los bordes recomendándose seguir la siguiente trayectoria. Figura 2.(Anexo) (Gómez Piquer, José y Cols 1992)

Se cuentan 100 células y se calcula el porcentaje de cada tipo leucocitario de interés (linfocitos, neutrófilos, eosinófilos y basófilos). (Bouda, Jan y cols. 2003)

$\text{Porcentaje} = \frac{100 \times (\text{n}^\circ \text{ de cada tipo leucocitario})}{\text{n}^\circ \text{ de leucocitos contados}}$

(Gómez Piquer, José y cols 1992.)

DETERMINACIÓN DEL HEMATOCRITO

Se utilizo la técnica de micrométodo (microhematocrito) para medir el valor del hematocrito. Se homogeniza la muestra, llenar el tubo capilar a tres cuartas partes de su capacidad, sellar uno de sus extremos con plastilina y centrifugar durante 10-15

minutos a 2,000-3,000 rpm, una vez retirado de la centrifuga se lee con el lector de microhematocrito. (Gómez Piquer, José y Cols.1992)

PROTEINAS PLASMATICAS TOTALES

Las proteínas plasmáticas pueden ser cuantificadas por refractometría. Este método puede llevarse a cabo en condiciones de campo, la información obtenida es relevante pues podemos confirmar o descartar diagnósticos presuntivos. Si la lectura la correlacionamos con el valor hematocrito, la posibilidad de establecer un diagnóstico mas certero es mayor.

Para la determinación de la proteína se utilizó una muestra de sangre con EDTA, introducir un capilar en el recipiente que contiene la muestra de sangre y llenarlo hasta las tres cuartas partes. Sellar el capilar, Centrifugar por 5 minutos a 11000 rpm. Retirar el capilar de la microcentrífuga romperlo en el limite de la capa leucoplaquetaria. El plasma es depositado en la placa del refractómetro. Para realizar la lectura se presiona la cubierta con suavidad pero firmemente, dirigiendo el refractómetro hacia una fuente de luz brillante, de manera horizontal. Enfocar el refractómetro moviendo el ocular. La lectura se hace al detectar en la escala la línea divisoria entre los campos oscuro y luminoso. De esta forma se determina el valor de proteínas plasmáticas en $\times 10\text{g/L}$. (Bouda, Jan y Cols.2003)

FIBRINOGENO:

La determinación de fibrinógeno se realizó por refractometría. Siguiendo los siguientes pasos:

De una muestra de sangre con EDTA llenar un tubo capilar, centrifugar por 5 minutos a 11000 rpm, el capilar, se retira de la centrífuga y se sumerge en baño maría a 56°c por 3 minutos, centrifugar el capilar con el fin de separar el fibrinógeno precipitado por acción del calor, se mide la concentración de proteínas plasmáticas, utilizando el refractómetro. La diferencia entre los dos resultados de proteínas plasmáticas corresponde a la concentración de fibrinógeno en g/l. (Bouda, Jan y Cols.2003)

VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO (VCM)

Se calcula de la siguiente manera: (Gómez Piquer, José y cols.1992.)

$$\text{VCM} = \frac{\text{Hto. (\%)} \times 10}{n^\circ}$$

VCM: volumen corpuscular medio.

Hto. (%) = hematocrito en porcentaje.

n° = numero de hematíes

MATERIALES:

Toma de muestra:

1. Jeringas desechables de 12 ml.
2. Agujas desechables calibre 18.
3. Tubos de ensayo de 5ml con EDTA una gota al 10%.
4. Alcohol al 70%
5. Algodón
6. Gradillas
7. Vitaminas (extracto de hígado)
8. Desparasitante (fenbendazol al 15%)
9. Guantes de látex.
10. Encuesta.
11. Axial
12. Termo contenedor de muestras.

Análisis de las muestras:

1. Tubos capilares
2. Pipetas de Thoma para GR. y GB.
3. Plastilina
4. Gasa
5. Microcentrífuga. Marca Nahita. Modelo 2900.

6. Baño Maria. Marca J. P. Selecta. Modelo 3000459
7. Refractómetro clínico tres escalas. Marca Zuzi. Modelo 50303020
8. Líquido de hayen.
9. Líquido de turk.
10. Cámara de Neubauer.
11. Contadores celulares.
12. Cubre objetos.
13. Portaobjetos.
14. Tinción de wright.
15. Microscopio con sistema de microfotografía marca OLIMPUS B x 41.
Modelo B x 41TF
16. Aceite de inmersión.
17. Pipetas plásticas.
18. Lápiz punta de diamante.
19. Cinta adhesiva.
20. Lector de microhematocrito.
21. Regla milimetrada.

MARCO TEORICO

COMPOSICION DE LA SANGRE

La sangre consiste en una matriz líquida y muchas células, además de un componente fibrilar (fibrina) que esta presente durante la coagulación sanguínea. La fase líquida o matriz se llama plasma, encontrándose diversas células y fragmentos celulares en este. Al eliminar fibrinógeno y fibrina, el líquido restante es suero. (Bansk, William J. 1996)

La sangre funciona como medio de transporte. Lleva nutrientes del tracto digestivo a los tejidos, los productos finales del metabolismo de las células a los órganos de excreción, oxígeno de los pulmones y las secreciones de las glándulas endocrinas a todo el organismo. También ayuda a regular la temperatura corporal, a mantener una concentración de agua y electrolitos constante en las células, a regular la concentración de Iones hidrógeno del organismo y a defenderlo contra microorganismos. (Sweenson, Melvin J.; Reece, William O. 1999.)

El mantenimiento del volumen líquido se establece por el equilibrio de líquidos sanguíneo-vasculares, tisulares, celulares y linfáticos. En sus funciones de regulación, la sangre participa en el transporte de hormonas, además aporta la protección mediante sus células y materiales en suspensión (anticuerpos, antitoxinas, etc.)

El plasma es la matriz líquida de la sangre, de color pajá y transparente. Se aprecia cuando una muestra de sangre con anticoagulante es centrifugada o se deja para que se sedimente, los elementos formados en el fondo del envase colector, constituye alrededor de 35% - 50% del volumen sanguíneo, pero varios factores (edad, grado de hidratación, enfermedad, condición, atlética) pueden modificar dicho porcentaje.. (Bansk, William J. 1996)

Según Banks, William J. 1996 el plasma consta de 90% de agua y 10% de sustancias disueltas y sólidos, en el animal adulto. Los iones inorgánicos (Na^+ , K^+ ; Cl^- ,

HCO₃⁻, Ca⁺⁺, etc.) constituyen alrededor de 15% del plasma. Las proteínas plasmáticas (albúminas, globulinas, fibrinógeno) representan cerca del 7% del plasma total (Bansk, William J. 1996 y Ruckebush, Yves y cols.1994). Otras sustancias orgánicas (urea, ácido úrico, aminoácidos, ácidos grasos, glicerol, etc.) forman otro 1 %, es normal que el contenido plasmático se constituya con algunas hormonas, enzimas, pigmentos gases disueltos. Muchas de las características del plasma se relacionan con sus componentes proteicos, mismos que mantienen la presión osmótica coloidal intravascular, transportan varios constituyentes del plasma (hormonas, productos de desecho) y participan en los mecanismos de coagulación y en la protección que efectúan los anticuerpos humorales, gran parte de estas proteínas son producidas en el hígado tales como la albúmina, fibrinógeno y tres cuartas parte de las globulinas. (Bansk, William J. 1996)

Células sanguíneas

Se reconocen tres clases de células sanguíneas (corpúsculos): eritrocitos, leucocitos (células sanguíneas) y trombocitos (plaquetas).El color rojo de la sangre se debe a la hemoglobina, una proteína de los eritrocitos que contiene hierro. (Ruckebush, Yves y cols.1994)

Eritrocitos: En la sangre circulante de los mamíferos son células sin núcleos, no móviles. Se observan generalmente como discos circulares bicóncavos con una mancha pálida central. La biconcavidad aumenta el área superficial, lo que facilita el intercambio de oxígeno y bióxido de carbono que transportan los glóbulos rojos. El diámetro y el grosor varía según el estado nutricional del animal, siendo ligeramente bicóncavos en el caballo. La principal función de los eritrocitos es transportar Hb, la cual a su vez lleva oxígeno de los pulmones a los tejidos. (Ruckebush, Yves y cols.1994).

En los animales adultos, los eritrocitos se componen de 62 a 72 % de agua y casi 35 % de sólidos. La hemoglobina representa más o menos 95% de los sólidos y 34g/dl de eritrocitos o 12 a 14g/dl de sangre completa. El otro 5 % de sólidos lo constituyen

proteínas, lípidos, esteres de colesterol libre y grasas neutras, glucosa, enzimas y minerales.

El número promedio de eritrocitos en sangre de caballos es de $11 \times 10^{12}/L$, esta cantidad varia, dentro de especies (razas) y entre individuos (edad o enfermedad). Otra razón en la variación del recuento eritrocitario es su distribución desigual dentro del sistema vascular, (Ruckebush, Yves y cols.1994 y Sweenson, Melvin J.; Reece, William O.1999), ya que los líquidos plasmáticos cambian de manera constante a través de las paredes capilares, también varía el número de eritrocitos entre muestras de sangre arterial y venosa. La diferencia entre las cantidades del volumen celular circulante y total es más de la mitad de la masa eritrocitaria circulante. Cerca de un tercio de esta parte no circulante del volumen de eritrocitos, o almacenamiento de eritrocitos, se acumula en el bazo. Se considera al bazo como una reserva a la cual se acude cuando aumenta la demanda en la capacidad de transporte de oxígeno en situaciones de estrés (asfixia, ejercicio físico o producción de adrenalina), la eritropoyesis se acelera por hipoxia debido a un número insuficiente de eritrocitos o concentraciones disminuidas de hemoglobina funcional, lo cual provoca la liberación renal de eritropoyetina. La destrucción de eritrocitos gastados, que también es un proceso continuo, sucede en el sistema de macrófagos (hígado, bazo, medula ósea roja y ganglios linfáticos), reciclándose el hierro y las partes proteicas de la Hb en nueva Hb y otra parte se excreta en heces y orina. (Ruckebush, Yves y cols.1994)

Otros factores que afectan no sólo el recuento de eritrocitos, sino la concentración de hemoglobina y otros componentes de la sangre son principalmente; la edad, el sexo, el ejercicio, estado nutricional, la lactación, la gestación, la excitación (liberación de epinefrina), el volumen sanguíneo (hemodilución o hemoconcentración), la etapa del ciclo estral, la raza, la hora del día, la temperatura ambiental, la altitud y otros factores climáticos. La sangre de caballos ligeros, como los purasangres, tienen frecuentemente más glóbulos rojos por unidad de volumen que la sangre de caballos de tiro, este hallazgo se explica parcialmente con base en la excitación que provoca una liberación de epinefrina, la cual hace que el bazo se contraiga y aumente el número de eritrocitos en la sangre circulante. Además, los eritrocitos de los purasangres tienen menor

tamaño, por consiguiente, el área superficial de los eritrocitos es mayor, lo que facilita el transporte de oxígeno de los pulmones a los tejidos.

El promedio de vida de los eritrocitos en el caballo es de 145 días. Debido a que los eritrocitos son de menor tamaño conforme maduran, se puede pensar que en la anemia ferropénica el tiempo de vida de los glóbulos rojos es prolongado porque las células son anormalmente pequeñas. Este no es el caso. En la anemia ferropénica hay una interrupción de la maduración de los eritrocitos en la etapa del rubricito tardío. (Sweenson, Melvin J.; Reece, William O. 1999)

Los últimos estudios en Estados Unidos ha demostrado que los caballos tienen dos tipos de células rojas. El primer tipo es una célula rígida y el otro es más parecido a un globo lleno de agua. O sea, el segundo tipo puede cambiar de forma y pasa con más facilidad para llegar a los músculos y el sistema respiratorio. En general, la mayoría de los caballos tienen un 40% de las células rígidas y un 60% de las células más flexibles. Esto quiere decir que es posible que los caballos con un porcentaje más alto de células flexibles puedan soportar mejor el trabajo de distancia. (Bolger, Coby 2003)

Leucocitos: son mucho menos numerosos que los eritrocitos en la sangre circulante. Estos a diferencia de los eritrocitos, realizan sus funciones en los tejidos y no en el torrente circulatorio. Hay aproximadamente 1,000 eritrocitos por cada leucocito en el torrente circulatorio de los caballos. En las infecciones bacterianas los leucocitos, especialmente los neutrófilos, pueden aumentarse, mientras que en enfermedades víricas disminuyen. La leucopenia también se encuentra cuando se presentan endotoxinas bacterianas, septicemia y toxemia. Los leucocitos que se encuentran en la sangre se clasifican en granulocitos (tienen gránulos específicos en su citoplasma) y según su reacción a la coloración, son neutrófilos, eosinófilos o basófilos. El otro grupo es el de los agranulocitos (linfocitos y monocitos). (Sweenson, Melvin J.; Reece, William O. 1999). Los leucocitos a diferencia de los eritrocitos de casi todos los mamíferos son nucleados (Ruckebush, Yves y cols. 1994)

Neutrófilos: son la primera línea de las defensas del organismo. Forman aproximadamente el 60% del total de glóbulos blancos o entre 3.500 a 6.000/ml. Reaccionan rápidamente, en unas 4 horas ante cualquier problema hasta 40.000. Hay dos tipos de neutrófilos, el “Cayado” que es el neutrófilo maduro y el “Segmentado”. Si se ve un aumento en el número de Neutrófilos segmentados, quiere decir que el animal está experimentando un estrés agudo y está utilizando incluso los Neutrófilos inmaduros producidos recientemente por la médula ósea. (Bolger, coby 2003)

El núcleo de cada célula madura esta dividida generalmente en lóbulos o segmentos que se conectan por medio de filamentos, a estas se les llama segmentadas. Las células con núcleos que parecen bandas curvadas o enrolladas, con aspecto de bastón o incluso profundamente dentadas pero sin segmentación se conocen como células en banda, son formas más jóvenes o inmaduras. Fagocitan bacterias, virus y otras partículas pequeñas. El ejercicio actúa como una fuerza contraria a la marginación y distribuye a los glóbulos blancos en la sangre circulante. (Sweenson, Melvin J.; Reece, William O. 1999)

Eosinófilos: son mucho menos numerosos que los neutrófilos (2 a 3 del total de leucocitos), funcionan como fagocitos débiles, su presencia se relaciona con ciertos estados de reacción a la migración de parásitos, mas que la defensa contra bacterias comunes y llegan a ser notables en los tejidos donde hay reacciones alérgicas. (Ruckebush, Yves y cols.1994 y J. Bansk, William 1996). La eosinopenia aparece después de condiciones de tensión en las que hay respuesta hipotalamica-adrenocortical o cuando se administra hormona adrenocorticotropa (ACTH) exógena lo que estimula la producción de cortisol de la corteza adrenal, dando este la eosinopenia. (Sweenson, Melvin J.; Reece, William O. 1999)

Basófilos: Son los menos numerosos, móviles y fagocíticos de los granulocitos (0.5% de los leucocitos sanguíneos totales). Generados en la medula ósea, los basófilos tienen una vida media de 10 a 12 días y desaparecen de la sangre después de administrar corticosteroides, adrenocorticotropina (ACTH) y hormonas tiroideas.

Linfocitos: no son células fagocíticas y se relacionan con respuestas inmunitarias. Más del 99% de los linfocitos se encuentran en los tejidos y son pocos los que se encuentran en sangre, ya que los linfocitos circulan de manera constante entre tejidos y sangre a través del paso interepitelial en capilares. Se originan de nódulos linfáticos, medula ósea, bazo, timo y folículos linfoides, en muchas membranas mucosas (placas de peyer).

Se reconocen dos grupos funcionales de linfocitos no similares, linfocitos B para producir anticuerpos circulantes capaces de atacar agentes invasores (inmunidad humoral) y linfocitos T, que son linfocitos activados, designados para destruir agentes extraños (inmunidad mediada por células o celular). (Ruckebush, Yves y cols. 1994)

PROPORCIONES ENTRE LOS GLÓBULOS BLANCOS

Es importante que se analice la relación entre todos los tipos de glóbulos blancos. La proporción de Neutrófilos/Linfocitos debe estar aproximadamente en 60/40. Posibles cambios en esta proporción significan diferentes niveles de estrés. Si la proporción cambia a 70/30 u 80/20, significa que hay algún problema en el organismo. Se llega a perjudicar el rendimiento del caballo si la proporción es mayor de 67/33. El caballo necesita descanso para recuperarse si la proporción llega a 75/25 y si es mayor, normalmente hay un problema ya clínico, dolor, un caso de cólico o similar. Si la cantidad de Linfocitos es mayor que la de Neutrófilos, quiere decir que hay algún problema crónico (Ej. un virus, mioglobinuria, dolor etc.).(Bolger, coby 2003)

HEMATOCRITO

Es el porcentaje de glóbulos rojos en sangre. Normalmente la cantidad de glóbulos rojos oscila entre 6 a 8 millones/ml. en comparación con los glóbulos blancos que es de 6 a 8 mil/ml. Se utiliza el hematocrito para estudiar casos de deshidratación y anemia. Los niveles óptimos rondan el 40%. Si los niveles están por debajo de 35% o por encima de 45%, indica que hay algún problema. Un caballo puede estar anémico si

el valor del hematocrito está por encima del normal y no aumenta proporcionalmente el número de hematíes (glóbulos rojos) por la contracción del bazo. Este análisis está afectado si el caballo está nervioso cuando se toma la muestra de sangre y también sube si el caballo está subiendo de forma física. Un valor por encima del 40% debe estar justificado por un trabajo fuerte. Si no, es que el caballo estaba excitado cuando se tomo la muestra. Esto puede complicar la interpretación del análisis ya que la deshidratación también es común en caballos que están en trabajo fuerte para subir su nivel de forma física. Hay que utilizar los resultados en combinación con otros diagnósticos. (Bolger, coby 2003)

El exceso de anticoagulante produce un descenso en el valor de hematocrito, pero en caso que no sea esto el descenso nos indica la existencia de anemia, por el contrario el aumento se debe a una deshidratación del animal o en el caso de policitemia o poligobulia (aumento en el número de glóbulos rojos). (Gómez Piquer, José 1992)

VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO (VCM)

Indica el tamaño del glóbulo rojo. Este análisis ayuda a descifrar posibles causas de anemia. La anemia no sólo se produce ante deficiencias relacionadas con la dieta del caballo. Puede surgir por problemas parasitarios crónicos o inflamación pues en estos casos el hierro que se le proporciona al caballo en su dieta, es utilizado en el proceso para mantener su sistema inmunológico.

El VCM nos proporciona información sobre la eficacia de la médula ósea en la producción de glóbulos rojos. Un caballo en buena forma física tiene un VCM alto, produce glóbulos rojos grandes y de buena calidad. El caballo sobrentrenado no produce nuevos glóbulos rojos y tiene un VCM más bien bajo. Cada laboratorio tiene sus propias tablas, pero en general un rango de VCM aceptable sería entre 43 y 50. El significado de 50 sería un caballo al principio de su preparación que está reaccionando bien (no quiere decir que el caballo esté en su óptima forma física), 48 es aceptable

para un caballo en preparación para una carrera. Un valor de 46 sería para un caballo que está muy cerca de su forma física óptima y que hay que reducir el trabajo para no sobrepasarse. En cuanto llegue a 45, el caballo estará empezando a resentirse de la preparación y habrá que tener cuidado. Si sale alto, puede ser por pérdida de sangre (úlceras o un caballo sangrador), o por falta de vitaminas B6, B12, Ácido Fólico o Niacina, o por falta de absorción de estos nutrientes por un problema digestivo o por falta de flora intestinal. Si el resultado obtenido es bajo, puede indicar una falta de hierro, cobre o piridoxina. (Bolger, coby 2003).

PROTEINAS PLASMATICAS TOTALES

Son bajas en el potro recién nacido y aumentan durante la toma de calostro debido a la absorción de inmunoglobulinas (Jeffcott, 1974). A partir de entonces, las proteínas plasmáticas aumentan de manera gradual. Los valores equivalentes correspondientes a los animales adultos normales se alcanzan a la edad de tres meses. (Schalm, Jain y Carrol, 1975) informan que en 147 caballos clínicamente normales las proteínas plasmáticas oscilaban entre 6,0 y 8,5 gr/dl.

La determinación de las PPT es útil para valorar una hemorragia aguda, la disminución de las mismas se asocia con un descenso del hematocrito en las hemorragias agudas cuando se recupera el balance de líquidos. (Jennings, Paul B.1989)

Si en un análisis de sangre aparecen altos los niveles de proteína, significa que el caballo tiene un problema de deshidratación. La proteína se elimina del organismo mediante el plasma y no está en absoluto relacionado con la dieta del animal. (Bolger, Coby Spiller, 2004).

FIBRINOGENO

Está relacionado con la coagulación de sangre por una enzima (trombina). Si baja este análisis o el de las plaquetas, puede indicar que el sistema del caballo no es capaz

de prevenir una hemorragia en caso de accidente. Esto puede significar que el caballo padece un problema hereditario o que ha sido expuesto a algún veneno, que tenga como principio activo anticoagulante. También proporciona información sobre la cronicidad de alguna lesión o enfermedad inespecífica. (Bolger, coby 2003)

Causas que producen aumento de fibrinógeno

Inflamación: bacteriana, química, traumática, crónica y en destrucción tisular.

Causas que producen disminución de fibrinógeno

- Muestra de sangre con coágulos,
- Insuficiencia hepática,
- Coagulación intravascular diseminada,
- Coagulopatías,
- Hipofibrinogenemia congénita. (Bouda, Jan y Cols.2003)

RESPUESTA HEMATOLÓGICA AL EJERCICIO

El caballo es un animal con el doble de capacidad, para el trabajo físico que el hombre, a pesar de esto, sus mecanismos fisiológicos básicos son esencialmente los mismos que en el hombre. Como resultado del ejercicio hay cambios en el funcionamiento del sistema músculo-esquelético, sanguíneo, cardiovascular y respiratorio.

El bazo es el principal reservorio de eritrocitos del caballo, pudiendo almacenar de la tercera parte a la mitad del volumen total de eritrocitos, siendo la sangre del bazo una o dos veces más rica en eritrocitos que la sangre circulante. El ejercicio o la liberación de la adrenalina como consecuencia de la mas ligera manipulación, la excitación psíquica, la menor actividad muscular contraen el bazo y permiten la liberación de la sangre almacenada al torrente circulatorio aumentando la capacidad portadora de oxígeno de la sangre, que salva con esta autotransfusión el peligro de hipoxia con el subsiguiente problema de una insuficiencia cardiaca aguda.

Eritrograma

Las hembras tienen un mayor valor en el hematocrito, glóbulos rojos y hemoglobina por tener mayor capacidad de almacenamiento de eritrocitos en el bazo que los machos. En la actualidad, se toman como muy importante los índices volumétricos VCM, hemoglobina corpuscular media (HCM) y concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) como respuesta hematológicas al ejercicio.

Leucograma

La contracción del bazo y el aumento de la frecuencia cardiaca estimulan la liberación de los leucocitos que se encuentran en el lecho vascular, hacia los vasos de mayor calibre. El sexo no influye en los valores leucocitarios. Existen diferencias significativas cuando se someten a los animales a diferentes grados de ejercicio. En ejercicios de intensidad máxima aparece leucocitosis con neutrofilia, linfocitosis con cierto grado de eosinopenia como respuesta al ejercicio ya que en situaciones de estrés los eosinófilos migran a los lugares de reserva, (mucosa gástrica, pulmones, tejido linfático, etc). En ejercicios de menor intensidad se presenta leucocitosis debida a una neutrofilia por liberación de cortisol el cual provoca una disminución en la migración de neutrófilos intravasculares y que estimula la producción en la medula ósea y una disminución de eosinófilos en este tipo de ejercicio.

Volumen sanguíneo

Durante el ejercicio se da un aumento en el volumen sanguíneo debido a la esplencontracción y la liberación de células almacenadas en el bazo. (García Sacristán, Albino 1995)

ALTERACIONES DE LAS CELULAS BLANCAS.

Tabla 1. Causas de alteraciones de los valores de neutrófilos (Gómez Piquer, José 1992)

Aumento de neutrófilos	Descenso de neutrófilos
<p>1. Fisiológica:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Miedo y excitación • Tras el ejercicio <p>2. Por estrés</p> <p>3. Inflamación</p>	<p>1.Excesiva demanda de neutrófilos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Infecciones bacterianas sobreagudas, peritonitis, etc. • Enfermedad inmunomediadas • Viremias no complicadas <p>2.Por hipoplasia granulopoyética:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Agentes químicos: intoxicación por Estrógeno. • Genética <p>3.Por secuestación</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anafilaxia • Toxemia

La neutropenia puede ser debida a una producción medular insuficiente que en los caballos se atribuye secundariamente a procesos neoplásicos (linfosarcoma o leucemias), también puede deberse por aumento de la demanda de neutrófilos es frecuente en caballos y ocurre asociada a endotoxinas y alteraciones gastrointestinales (colitis, enteritis, salmonelosis, etc.).

La neutropenia por redistribución de los neutrófilos de la sangre, es la más común en los caballos y se dan por un aumento del sector marginal, que aparece cuando los neutrófilos circulantes son secuestrados en la micro circulación, en los casos de endotoxemia. (Fidalgo, Luis Eusebio y Cols. 2003)

Tabla 2. Causas de alteraciones de los valores de eosinófilos (Gómez Piquer, José1992)

Aumento de Eosinófilos	Descenso de Eosinófilos
1.En los estados alérgicos: <ul style="list-style-type: none"> • Parasitaciones de invasión tisular • Alergias alimentarias y medicamentosas 2. Hipoadrenocorticalismo 3.Leucemias eosinofílicas 4.Miositis eosinofílicas 5.Intoxicaciones con Arsénico, Fósforo, Benzol, etc. 6.Tratamiento con vagotónicos	1.Hiperadrenocorticalismo 2.Aplicación intensiva de Corticosteroides. 3.Infecciones agudas que cursan con neutrofilia.

La eosinofilia no se puede interpretar como, patognomónica de las parasitosis; tampoco los caballos parasitados deben mostrar necesariamente una respuesta eosinofílica. (R. Taylor, F. G.; Hillyer, M. H. 1999.)

Tabla 3. Causas de alteraciones de los valores de Basófilos (Gómez, Piquer, José1992).

Aumento de los Basófilos	Descenso de los Basófilos
1.Asociada a eosinofilia	1.Carece de significación clínica

Raramente caracterizan el recuento celular diferenciado de los caballos sanos. En otras especies se observan como mastocitos circulantes, pero el papel asociado a su aparición en la circulación de caballos enfermos es indefinido. (R. Taylor, F. G.; Hillyer, M. H. 1999.)

Tabla 4. Causas de alteraciones de los valores de linfocitos (Gómez Piquer, José 1992 y Fidalgo, Luis Eusebio y Cols. 2003)

Aumento de linfocitos	Disminución de linfocitos
<ol style="list-style-type: none"> 1. Infecciones subagudas o crónicas. 2. En periodos de convalecencia. 3. Leucemias linfocíticas. 4. Tras las vacunaciones. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Hiperadrenocorticalismo. 2. Uso excesivo de corticosteroides 3. Reacciones febriles. 4. En afecciones extensas del tejido ganglionar. 5. En obstrucciones respiratorias, digestivas, urinarias, biliares, etc. 6. Agentes que producen hipoplasia o aplasia medular. 7. Bloqueo del flujo linfático (enteropatias de proteínas). 8. Problemas del sistema inmunitario

ENFERMEDADES ERITROCITARIAS:

Las principales alteraciones eritrocitarias son la anemia y la policitemia o eritrocitosis. La anemia consiste en la disminución de los glóbulos rojos y consigo mismo la disminución del transporte de oxígeno.

Clasificación según la morfología de las células

1. Anemias normocíticas y normocrómicas (VCM y CMHC normales) se presenta en los casos de depresión eritropoyética, esto nos indica la existencia de otras enfermedades

2. Anemia microcíticas e hipocrómicas (VCM y CMHC disminuidos) característico en los estados deficientes en hierro, cobre y piridoxina, o de una imposibilidad de

utilización del hierro para la correcta síntesis de hemoglobina, o en las pérdidas crónicas de sangre.

3. Anemias macrocíticas (VCM aumentado) **y normocrómicas** (CMHC normal) asociadas a deficiencias de vitaminas B₁₂ o folato, y se presentan durante la fase de recuperación de hemorragias o hemólisis. (Gómez Piquer, José 1992)

La evaluación clínica del caballo anémico difiere de las otras especies en que la anemia, aunque sea grave, no va unida a una respuesta constante de aparición de reticulocitos en sangre periférica. Los cambios morfológicos observables en la sangre consisten en una respuesta regenerativa unida a la liberación de eritrocitos macrocíticos y hay también un aumento de la anisocitosis, pero en las anemias de carácter leve la anisocitosis no se manifiesta. (Jennings, Paul B.1989)

El caballo, en general, tiene mucha capacidad de recuperación contra la anemia, ya que tiene un organismo muy eficaz en la producción de hierro, así que suele reaccionar bien ante tratamiento veterinario y posterior ajuste en la dieta. (Bolger, Coby spiller, 2004)

Eritrocitosis (poliglobulia o policitemia):

Es el aumento en el número de los glóbulos rojos con el consiguiente incremento del hematocrito. La eritrocitosis se clasifica en eritrocitosis absoluta y relativa: La eritrocitosis absoluta se divide en primaria y secundaria.

La eritrocitosis absoluta primaria se debe a la proliferación excesiva de progenitores eritrocíticos que no dependen de la eritropoyetina para su diferenciación y maduración hasta dar a glóbulos rojos funcionales y morfológicamente normales. La policitemia primaria no se ha descrito en el caballo. La secundaria se debe a un aumento compensatorio de la eritropoyetina como respuesta a la hipoxia tisular, pero hay que tener en cuenta que la producción de eritropoyetina puede ser compensatorio a

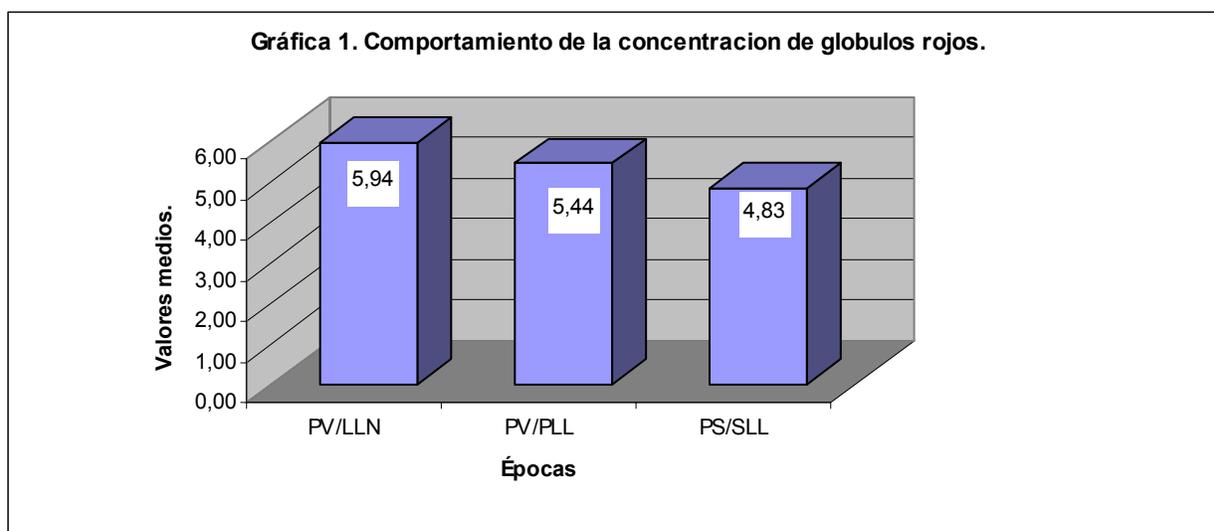
enfermedades pulmonares y cardiovasculares y por un aumento no fisiológico en casos de enfermedades renales, quistes renales y neoplasias.

Eritrocitosis relativa: en esta el volumen de glóbulos rojos es normal pero el recuento y el hematocrito aparecen elevados a causas de la deshidratación y hemoconcentración o bien en casos de nerviosismo o estrés en las que por efecto de las catecolaminas se produce una contracción esplénica. (Fidalgo, Luis Eusebio y Cols. 2003)

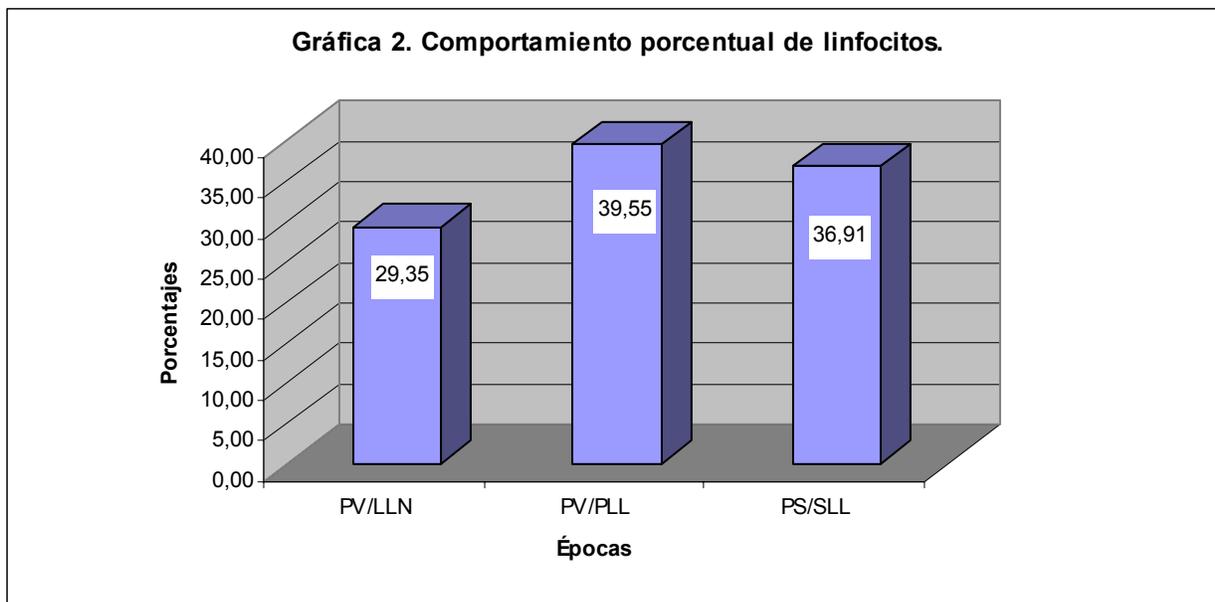
RESULTADOS Y DISCUSION

Se ejecutó un análisis de varianza a través de un Diseño Completamente al Azar (DCA) para determinar la existencia de diferencias significativas entre los datos de las variables hematológicas, en tres diferentes épocas.

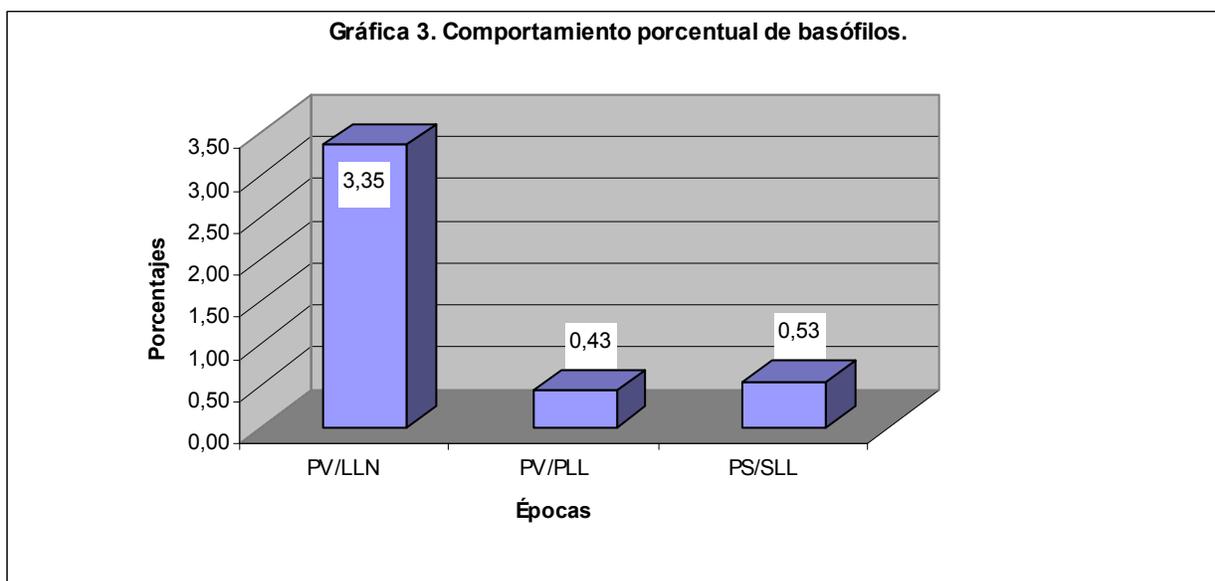
Para la variable Glóbulos Rojos (GR), hubo diferencia significativa $P > 0.05$ entre épocas, tabla 1.1. (Anexo), las medias de glóbulos rojos están disminuidas en relación a los valores de referencia tabla 5. Notando una relación entre las medias representadas por las literales **a** y **ab** que presentaron valores más altos, comparadas con la literal **b**. (tabla 1.2 anexo). Presumimos que esto se debe a la mejor alimentación y condiciones climáticas más favorables en la primera época. Gráfica 1.



Para la variable linfocitos, hubo diferencia significativa $P > 0.05$ entre épocas, tabla 2.1. (Anexo). Las medias observadas están dentro de los valores de referencia tabla 5, sin embargo en las medias con las literales **a** son iguales y mayores que la literal **b** (tabla 2.2 anexo), esto es atribuible a una mayor cantidad de lesiones, y estrés por exceso de trabajo en dichas épocas. Concentraciones ilustradas en la gráfica 2.

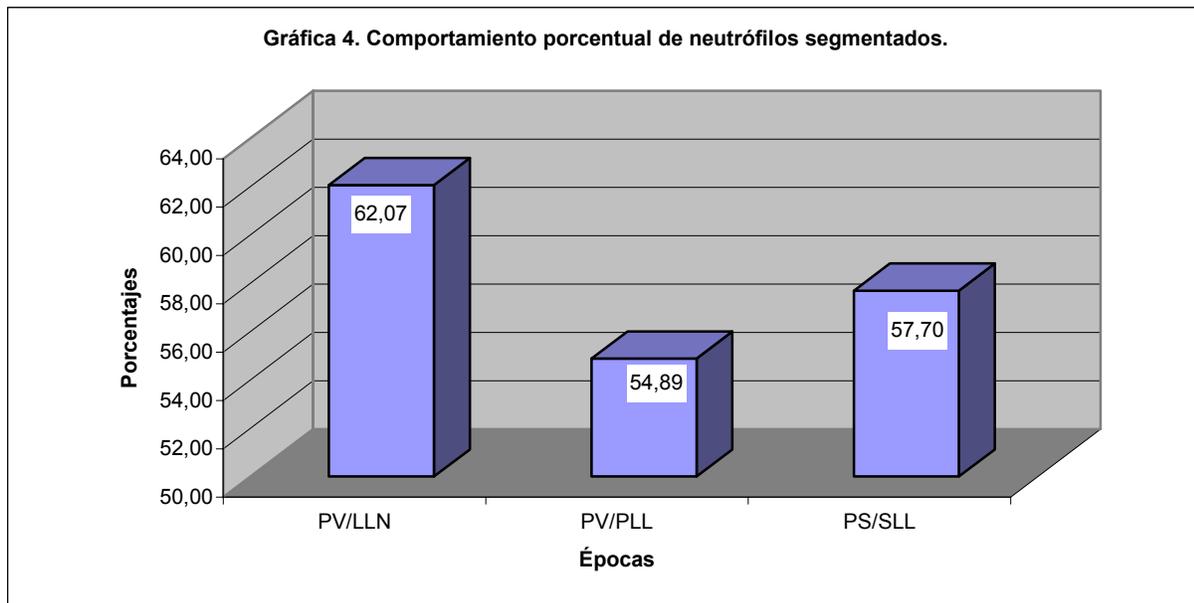


Para la variable basófilos, hubo diferencia significativa $P > 0.05$ entre épocas, tabla 3.1. (Anexo). No existe relación entre las medias, para la media representada por la literal **a**, hay mayor cantidad de células (tabla 3.2 Anexo) que sobrepasan los valores de referencia tabla 5. Este resultado es difícil de comprender porque según (R. Taylor, F. G.; Hillyer, M. H. 1999.) el papel asociado a su aparición en la circulación de caballos enfermos es indefinida. En las otras medias los niveles están normales con respecto a la literatura. Gráfica 3.



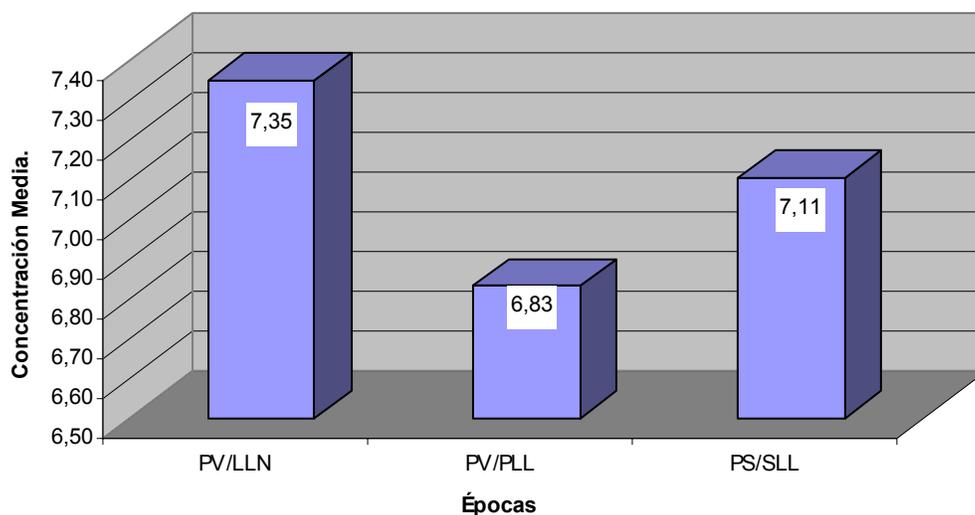
Para la variable neutrófilos, hubo diferencia significativa $P > 0.05$ entre épocas, tabla 4.1. (Anexo)

Las medias encontradas están dentro de los valores de referencia, tabla 5, sin embargo se nota un aumento en la media con la literal **a**, atribuible a procesos inflamatorios, otro factor no medido pero que influye, según literatura, es la excitación al momento de la toma de muestras Gráfica 4.



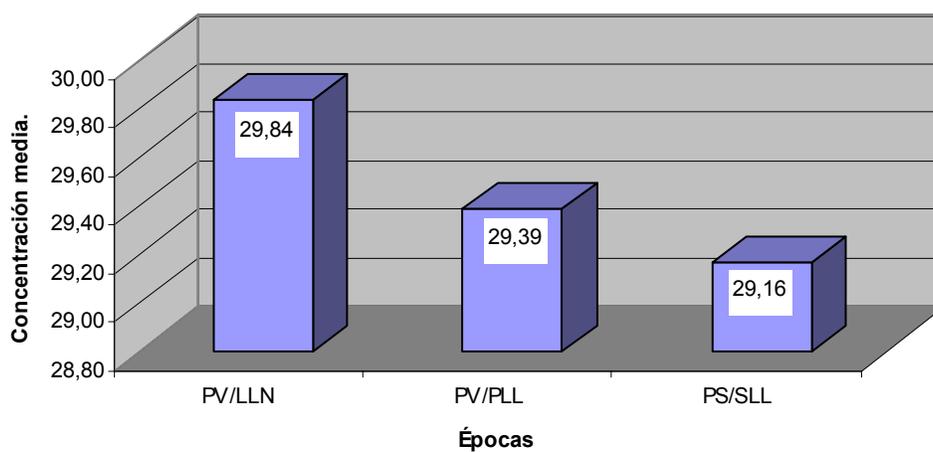
Para la variable concentración de proteínas plasmáticas totales (PPT), hubo diferencia significativa $P > 0.05$ entre épocas, tabla 5.1 (Anexo). Las medias calculadas de los valores de PPT, son diferentes aunque los valores numéricos se ubican dentro del rango normal para la especie tabla 5. Se observó el máximo valor en la media representada por la literal **a**, seguido por **b** y por ultimo la literal **c** (tabla 5.2 anexo). La fluctuación que se observa entre las medias, es atribuible a los diferentes grados de hidratación. Gráfica 5.

Gráfica 5. Comportamiento de la concentración media de proteínas plasmáticas totales.

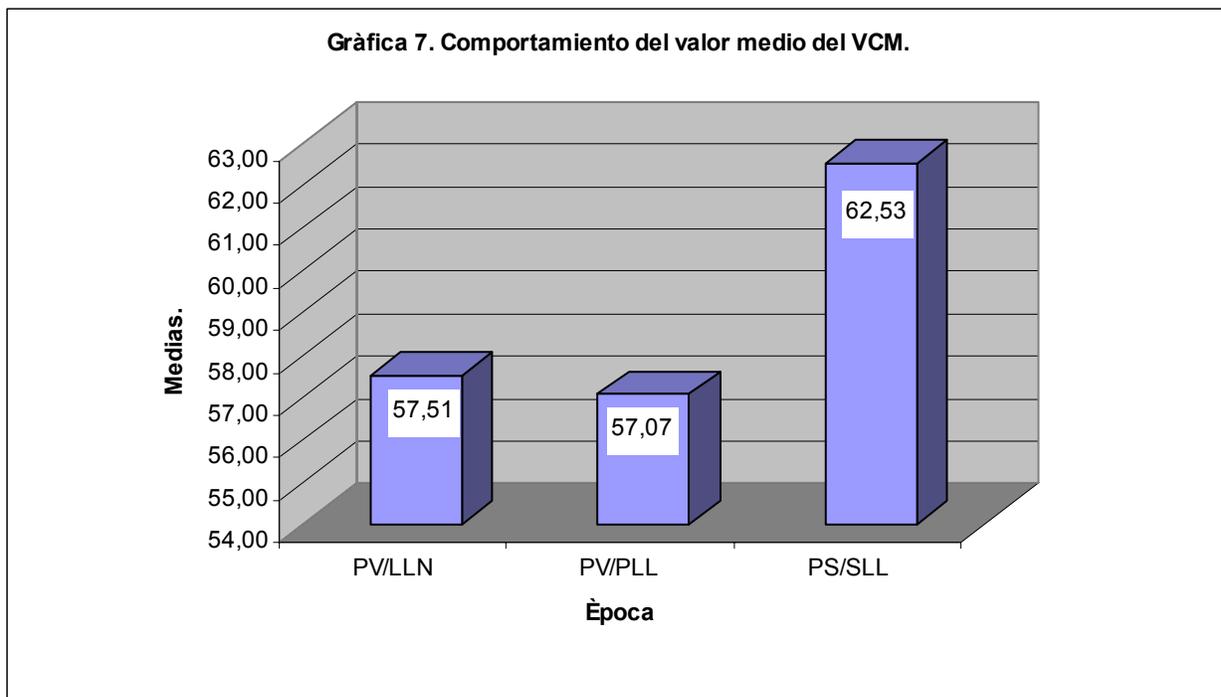


Para el valor de hematocrito no existe diferencia significativa $P \leq 0.05$ entre épocas, tabla 6.1 (Anexo), pero su comportamiento es inferior a los valores de referencia, descrito en la tabla 5. Esto podría deberse a la disminución de la cantidad de glóbulos rojos como consecuencia de nutrición deficiente, sobre esfuerzo, etc. Gráfica 6.

Gráfica 6. Comportamiento de la concentración media de hematocrito.

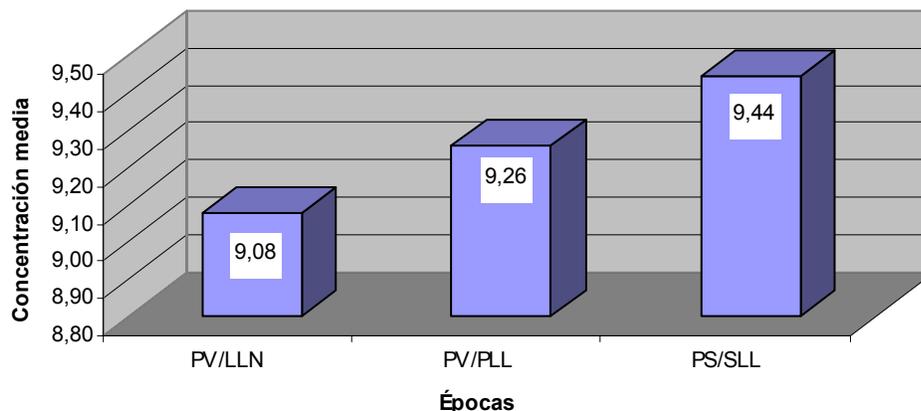


De igual manera para el valor corpuscular medio no se observó diferencia significativa $P \leq 0.05$ entre épocas, tabla 7.1 (Anexo), pero los valores encontrados están por encima de los valores de referencia tabla 5. Esto podría ser por la liberación de glóbulos rojos macrocíticos como respuesta regenerativa a la disminución de los hematíes. Por tanto presumimos que estos animales se encuentran en un estado de anemia del tipo macrocítica normocrómica. Gráfica 7.



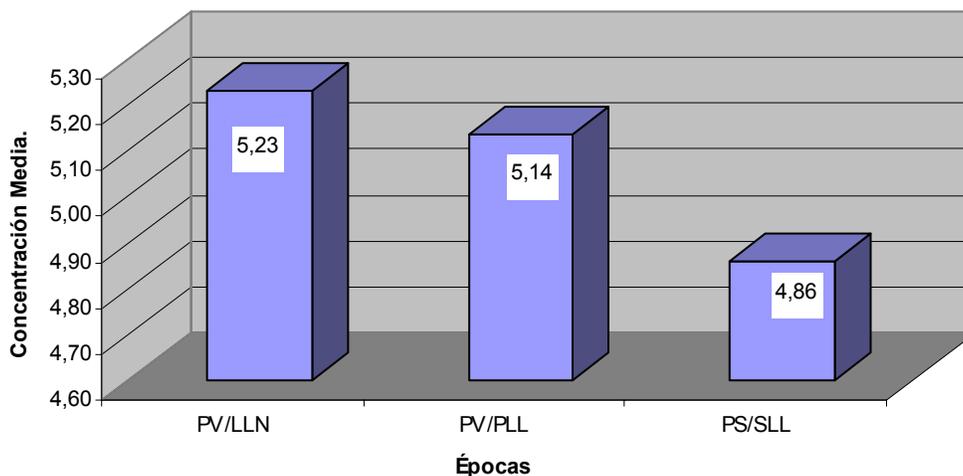
En la variable concentración de Glóbulos Blancos (GB), no hubo diferencia significativa $P \leq 0.05$ entre épocas, tabla 8.1. (Anexo). Esto se debe a que en los tres momentos del estudio los animales siempre presentaron lesiones y estuvieron sometidos a estrés, es decir, siempre recibieron el mismo manejo por parte de sus propietarios. No obstante los valores obtenidos coinciden con los valores de referencia, tabla 5. Gráfica 8.

Gráfica 8. Comportamiento de la concentración media de glóbulos blancos.



En la variable eosinófilos no se encontró diferencia significativa $P \leq 0.05$ entre épocas, tabla 9.1 (Anexo) y sus valores están en norma a los referidos a como puede apreciarse en la tabla 5. A pesar de haber encontrado una gran cantidad de animales sin desparasitar en la primera toma de muestra y luego haber aplicado el desparasitante no se mostró una fluctuación significativa para tal variable. Por tanto, según (R. Taylor, F. G.; Hillyer, M. H. 1999.) los caballos intensamente parasitados no necesariamente deben mostrar una respuesta eosinofílica. Gráfica 9.

Gráfica 9. Comportamiento de la concentración media de eosinófilos.



Para la variable concentración de fibrinógeno, no se encontró diferencia significativa $P \leq 0.05$ entre épocas, tabla 10.1. (Anexo), los valores se encuentran dentro del rango de referencia tabla 5. Gráfica 10.

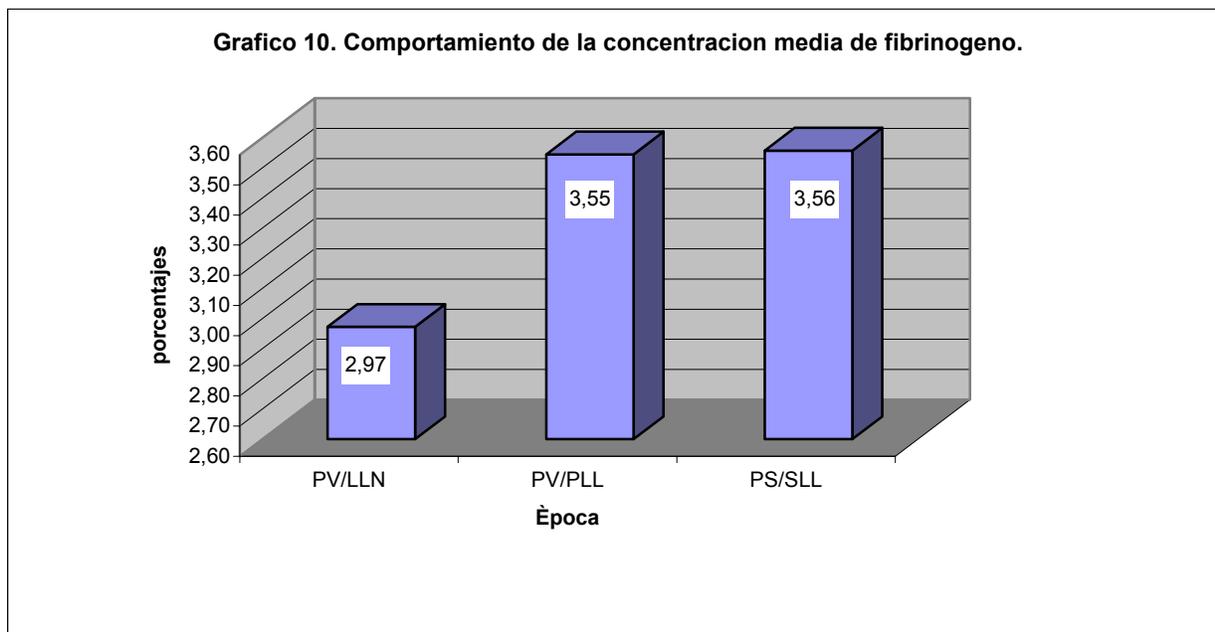


Tabla 5. Comparación de valores hematológicos. Valores de referencia (Amstutz, Harold E. y cols. 2000. y Meyer, Denny J. Y Harver, John W. 2000)

Parámetros hematológicos	Valores de referencia	Valores encontrados	Diferencia
Hematocrito	32-48 %	29.46 %	<
Proteínas	6-8.5 x10g/l.	7.10 x10g/l.	N
Glóbulos rojos	6-12x10 ¹² g/l.	5.40 x10 ¹² g/l.	<
Glóbulos blancos	6-12x10 ⁹ µl.	9.26 x10 ⁹ µl.	N
Neutrófilos segmentados	30-75 %.	58.22 %	N
Basófilos	0-3 %	1.44 %	N
Eosinófilos	1-10 %	5.08 %	N
Linfocitos	25-60 %	35.27 %	N
Fibrinógeno	1-5 g/l.	3.36 g/l.	N
VCM	34-58 fl.	59.04 fl.	>

CONCLUSIONES

1. La baja concentración de glóbulos rojos y el valor de hematocrito es atribuible a una nutrición deficiente que no satisface las necesidades energéticas de requerimiento (trabajo) evidenciándose de forma notoria en el aumento del VCM como respuesta a dicha circunstancia. Por tanto no tendría efecto positivo relevante sobre ellos si fuesen vitaminados o desparasitados regularmente, porque la alimentación que se proporciona no contiene los suficientes elementos nutricionales, así mismo no hay cambios en el manejo durante el año, factor que recrudece lo evidenciado.
2. De la comparación de los resultados obtenidos con los valores de referencia se observó que las variables (PPT, GB, Neutrófilos, Basófilos, Eosinófilos, Linfocitos, y Fibrinógeno) se encuentran dentro de los parámetros, presentados en tabla 5, no así el VCM que es superior a los rangos, mientras que las variables GR y Hematocrito son inferiores a los valores normales por lo que aceptamos parcialmente la hipótesis planteada, teniendo en cuenta que los resultados obtenidos son preliminares y no concluyentes.
3. La relación entre las épocas y los datos de biometría hemática se realizó utilizando prueba de Ji – Cuadrada. La tabla de contingencia, presentó que los resultados de los datos de este análisis sanguíneo, $p < 0,05$, provienen de un comportamiento así esperado ($X^2_c = 6,34 < X^2_{(0.05, 14)} = 23.68$) de las poblaciones equinas sometidas a ese tipo de manejo, y bajo esas condiciones ambientales. Según el coeficiente de correlación (CC) que es de **0.2112**, demuestra que los valores hematológicos son dependientes a la época, es decir, la época determina en mayor o menor grado la variación de los valores hematológicos. El valor es muy bajo, pero así presenta la existencia de correlación entre los valores hematológicos y la época (disponibilidad o no de alimento).

RECOMENDACIONES

1. Mejorar la alimentación en cantidad y calidad, para proporcionar los nutrientes necesarios para las funciones mantenimiento y trabajo.
2. Elaborar y cumplir un programa zoonosanitario para evitar las enfermedades en los animales y aquellas que puedan ser transmitidas al hombre.
3. Continuar la investigación durante todo un año, en cada uno de los meses incluyendo todos los valores hematológicos, bioquímica sanguínea y análisis urinarios, para conocer mejor el comportamiento de los mismos.
4. Mejorar los arneses y la condición de los carretones, para un mejor rendimiento de los caballos en el trabajo.
5. Establecer leyes que protejan la salud y el bienestar de estos animales.
6. Capacitar a los propietarios para aumentar el conocimiento sobre el manejo de los caballos.

BIBLIOGRAFIA

1. Amstutz, Harold E; Anderson, David P; Armour, Sir James; Jeffcott, L B; Loew, Franklin M; Wolf, Alice M. El manual Merk de veterinaria. Quinta edición. España. Oceano Grupo Editorial, S A. 2000. Pág. 2452 – 2453
2. Arroyo Solera, F. y cols. Fisiología del ejercicio en el caballo: Respuesta sanguínea. Comunidad virtual de veterinaria. Org. Revista electrónica de veterinaria REDVET. N° Equitecnia Vol. V- Julio 2004. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070704.html> 09/03/05
3. Banks, William J. Histología veterinaria aplicada. Segunda edición. Editorial El manual moderno. México D. F. 1996. Pág. 211-221.
4. Bolger, Coby. El análisis de sangre para el caballo de deporte. Hurse 1. Publicado en la revista ecuestre – Noviembre 2003. <http://www.spillers.es/art-41.htm>. 07/02/05
5. Bolger, Coby Spiller. El análisis de sangre - ¿Para que sirve? Hurse1. (2004) <http://www.spillers.es/art-39.htm> 11/05/06.
6. Bouda, Jan. Manual de prácticas de patología clínica. (CD-ROM) Primera edición electrónica (2003) División de educación continua. Facultad de medicina veterinaria y zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. Pág. 26-39.
7. Bush, B. M. Manual del laboratorio veterinario de análisis clínico. Editorial acribia. Zaragoza (España). 1982. Pág. 144, 192.
8. De Blas, Nacho y cols. Win Episcopo 2.0. Versión 2.0. <http://www.clive.ed.ac.uk/winepiscopo/>. 12-01/05

9. Fidalgo Álvarez, Luis Eusebio; López Rejas, Juan; De Gopegui Fernández, Rafael Ruiz; Ramos Antón, Juan José. Patología médica veterinaria. España, Imprenta KADMOS Salamanca, 2003, Pág. 167 – 168.
10. García Sacristan, A.; Castejon Montijano, F.; De la Cruz Palomino, L. F.; Gonzáles Gallego, J.; Murillo López de Silanes, M. D.; Salido Ruiz, G. Fisiología Veterinaria. Primera edición. España, McGRAW-HILL-INTERAMERICANA DE ESPAÑA. 1995. Pág.1036 – 1041.
11. Gómez Piquer, José. Manual practico de análisis clínico en veterinaria. Zaragoza. Mira Editores. 1992. Pág. 23-63.
12. Goody, Peter C. Anatomía del caballo. Una aproximación grafica a la estructura equina. Editorial ACRIBIA. Zaragoza, España.1976. Pág. 2, 3,49, 61, 63 y 75.
13. Inmonica.com. <http://209.15.138.224/inmonica/leon.htm>. 01/06/05
14. Jennings, Paul. B, Jr. Texto de cirugía de los grandes animales. Tomo I. Barcelona (España), Salvat editores. 1989. Pág. 54, 56, 57.
15. Lyman Ott. An introduction to statistcal methods and data analysis. Third edition. 1987. Pág. 249, 422 y 655.
16. Meyer, Denny J. Y Harver, John W. El laboratorio en medicina veterinaria interpretación y diagnostico. Segunda edición. Inter.-Medica. Argentina. 2000. Pág. 372.
17. Ruckebusch, Yves; Phaneuf, Louis Philippe; Dunlop, Robert. Fisiología de pequeños y grandes especies. México. El manual moderno, S. A. De C. V.1994. Pág. 135 – 141.

18. R. Taylor, F. G.; Hillyer, M. H. Técnicas diagnósticas de medicina equina. España. Acribia S.A. 1999. Pág. 11.
19. Sistema de Información Agrícola, Ministerio Agropecuario y Forestal de Nicaragua. MAG-FOR. <http://www.sia.net.ni/portal/inicio>
20. Swenson, Melvin J.; Reece, William O. Compiladores. Fisiología de los animales domésticos de Dukes. Tomo 1, Segunda edición. México, UTEHA NORIEGA EDITORES.1999. Pág. 22 – 30, 34 – 39.
21. Thrusfield, Michael. Epidemiología veterinaria. Editorial ACRIBIA, S.A. Zaragoza, España 1990.Pág. 208

ANEXOS

TABLAS.

Tabla 1.1 ANDEVA para la variable concentración de GR.

Fuente de Variación	SC	GL	CM	Fc.	Significancia
Entre Épocas	24,87	2	12,434	5,032	** P> 0.05
Error	298,96	121	2,471		
Total	323,82	123			

Tabla 1.2. Comparación de Medias para concentración de Glóbulos Rojos.

Épocas	media	literal
PV/LLN	5,94	a
PV/PLL	5,44	ab
PS/SLL	4,83	b

Tabla 2.1 ANDEVA para la variable de Hematocrito.

Fuente de Variación	SC	GL	CM	Fc.	Significancia
Entre Épocas	16,49	2	8,245	0,553	NS P< 0.05
Error	2907,37	195	14,910		
Total	2923,86	197			

Tabla 3.1 ANDEVA para la variable concentración del VCM.

Fuente de Variación	SC	GL	CM	Fc.	Significancia
Entre Épocas	769,63	2	384,817	1,417	NS P< 0.05
Error	32857,40	121	271,549		
Total	33627,03	123			

Tabla 4.1 ANDEVA para la variable "concentración de GB".

Fuente de Variación	SC	GL	CM	Fc.	Significancia
Entre Épocas	2,65	2	1,323	0,136	NS P< 0.05
Error	1179,54	121	9,748		
Total	1182,19	123			

Tabla 5.1. ANDEVA para la variable Linfocitos.

Fuente de Variación	SC	GL	CM	Fc.	Significancia
Entre Épocas	3311,72	2	1655,858	20,988	*** P> 0.05
Error	12465,40	158	78,895		

Total	15777,12	160			
-------	----------	-----	--	--	--

Tabla 5.2 Comparación de Medias para Linfocitos.

Épocas	media	literal
PV/PLL	39,55	a
PS/SLL	36,91	a
PV/LLN	29,35	b

Tabla 6.1 ANDEVA para la variable Eosinófilos.

Fuente de Variación	SC	GL	CM	Fc.	Significancia
Entre Épocas	3,77	2	1,883	0,108	NS P< 0.05
Error	2766,11	158	17,507		
Total	2769,88	160			

Tabla 7.1, ANDEVA para la variable Basófilos.

Fuente de Variación	SC	GL	CM	Fc.	Significancia
Entre Épocas	329,28	2	164,641	33,250	** P> 0.05
Error	782,36	158	4,952		
Total	1111,64	160			

Tabla 7.2, Comparación de Medias para Basófilos.

Épocas	media	literal
PV/LLN	3,35	a
PS/SLL	0,53	b
PV/PLL	0,43	c

Tabla 8.1, ANDEVA para la variable Neutrófilos.

Fuente de Variación	SC	GL	CM	Fc.	Significancia
Entre Épocas	1513,22	2	756,608	8,920	** P> 0.05
Error	13402,16	158	84,824		
Total	14915,38	160			

Tabla 8.2, Comparación de Medias para neutrófilos

Épocas	media	literal
PV/LLN	62,07	a
PS/SLL	57,70	b
PV/PLL	54,89	b

Tabla 9.1 ANDEVA para la variable concentración de PPT

Fuente de Variación	SC	GL	CM	Fc.	Significancia
Entre Épocas	8,85	2	4,427	15,098	*** P> 0.05
Error	57,18	195	0,293		
Total	66,03	197			

Tabla 9.2 Comparación de medias para PPT.

Épocas	Media	literal
PV/LLN	7,35	a
PS/SLL	7,11	b
PV/PLL	6,83	c

Tabla 10.1, ANDEVA para la variable fibrinógeno

Fuente de Variación	SC	GL	CM	Fc	Significancia
Entre Épocas	16,34	2	8,170	1,227	NS P< 0.05
Error	1298,43	195	6,659		
Total	1314,77	197			

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA
UNAN – LEON
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA



FICHA N° _____

GENERALES.

Propietario: _____ Fecha: _____ Hora: _____

Dirección: _____ Tel. _____

Zona de Trabajo: _____

RESEÑA.

Raza: _____ Nombre: _____ Sexo: _____

Edad: _____ Peso aprox.: _____ Kgs. Tipo de carga: _____

Estado general: 1 _____ 2 _____ 3 _____

ALIMENTACION. Pasto granos Desperdicios de mercado Otros: _____

VITAMINACION. SI NO Con que: _____ Cuando: _____

DESPARACITACIONES. SI NO Con que: _____ Cuando: _____

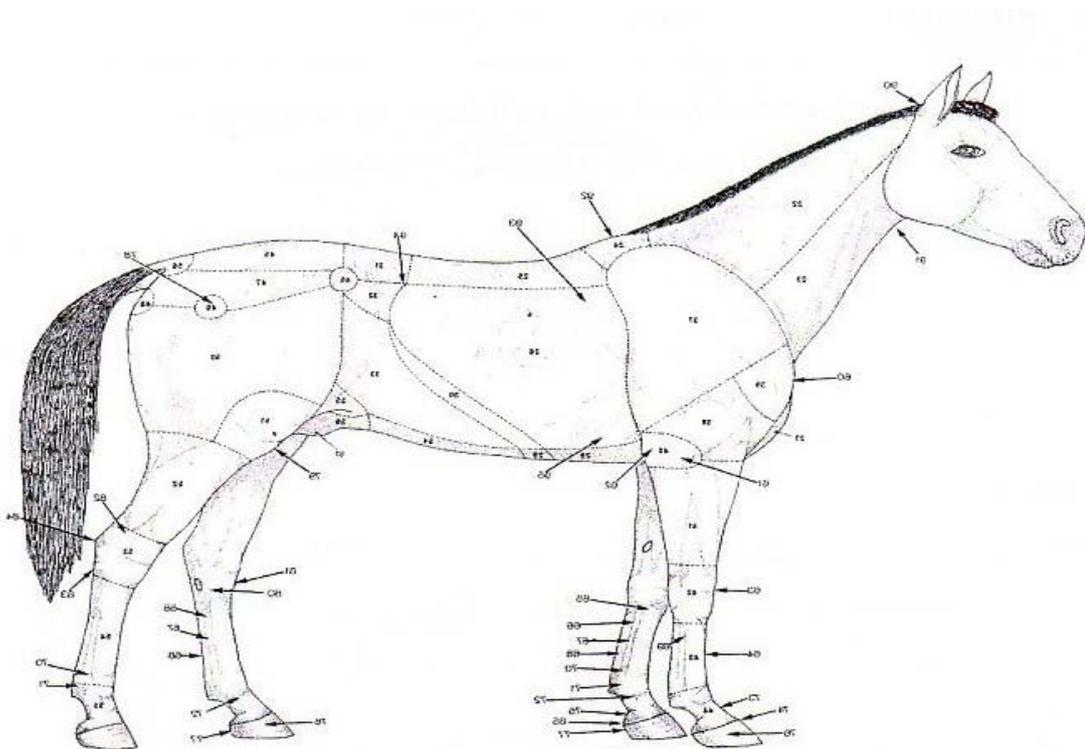
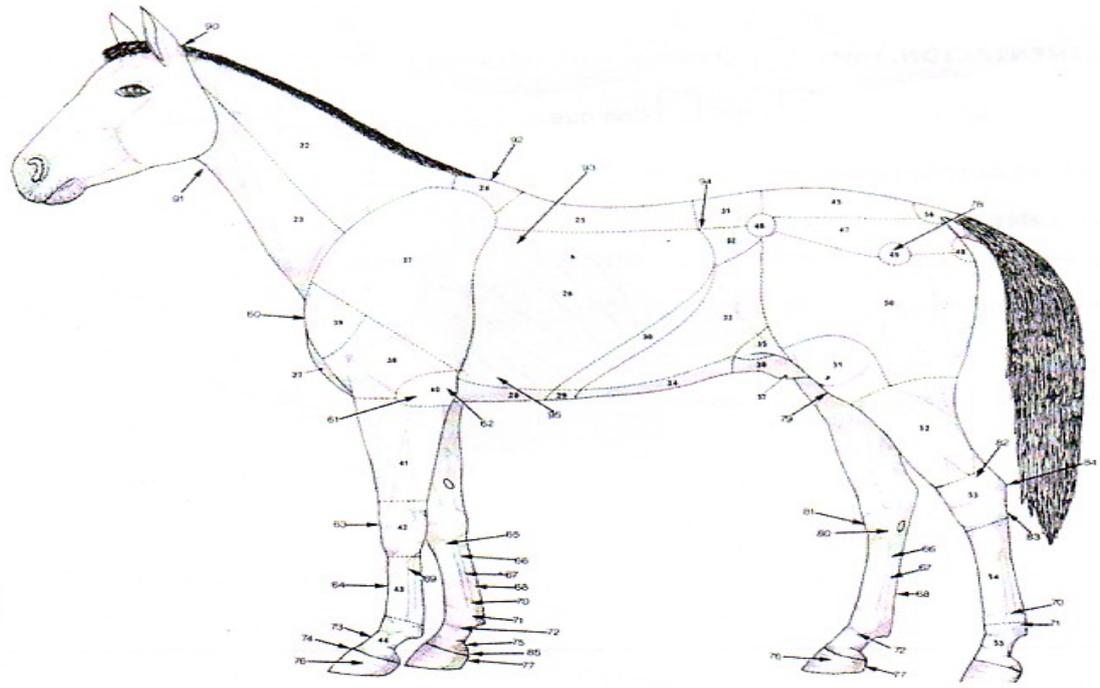
ENFERMEDADES.

Ha estado enfermo: SI NO Cuando: _____

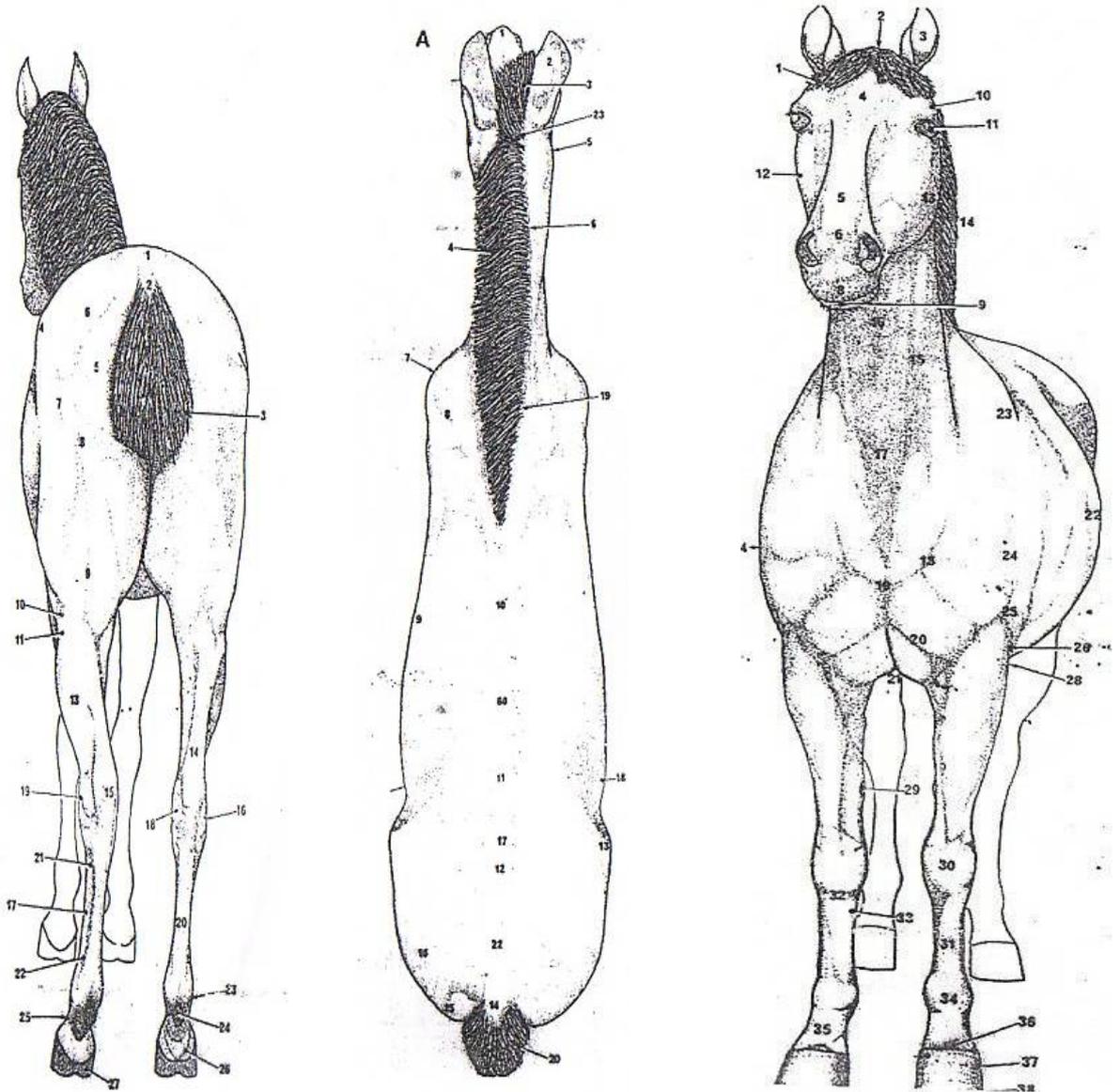
Le puso tratamiento SI NO

Local Inyectado Tomado

Encuestador: _____



Goody, Peter C.1976.



Goody, Peter C.1976.

Goody, Peter C. 1976.

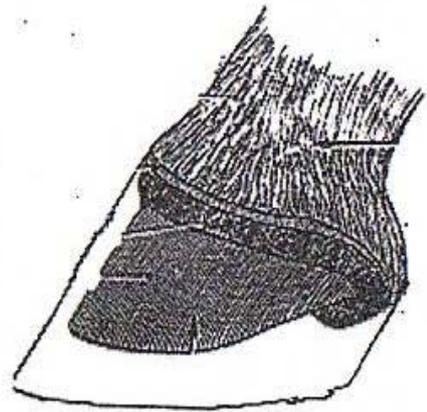
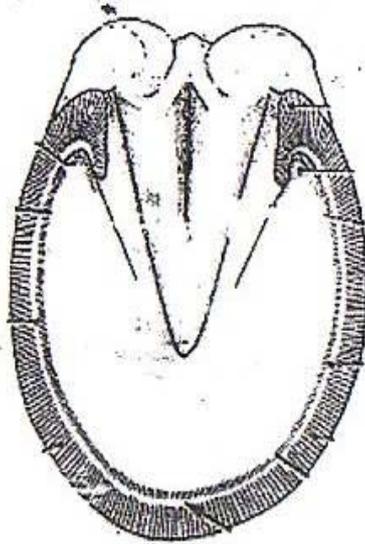
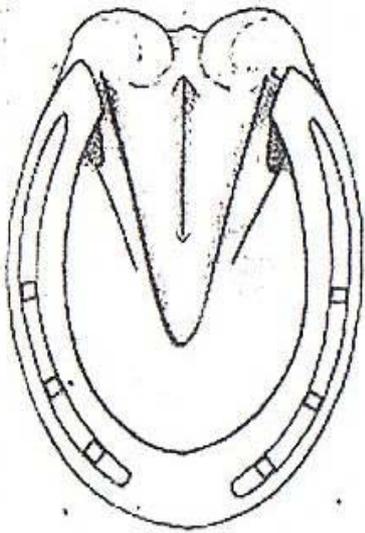


Figura1. Rayado de Neubauer mejorado. (Bush, B. M. 1982)

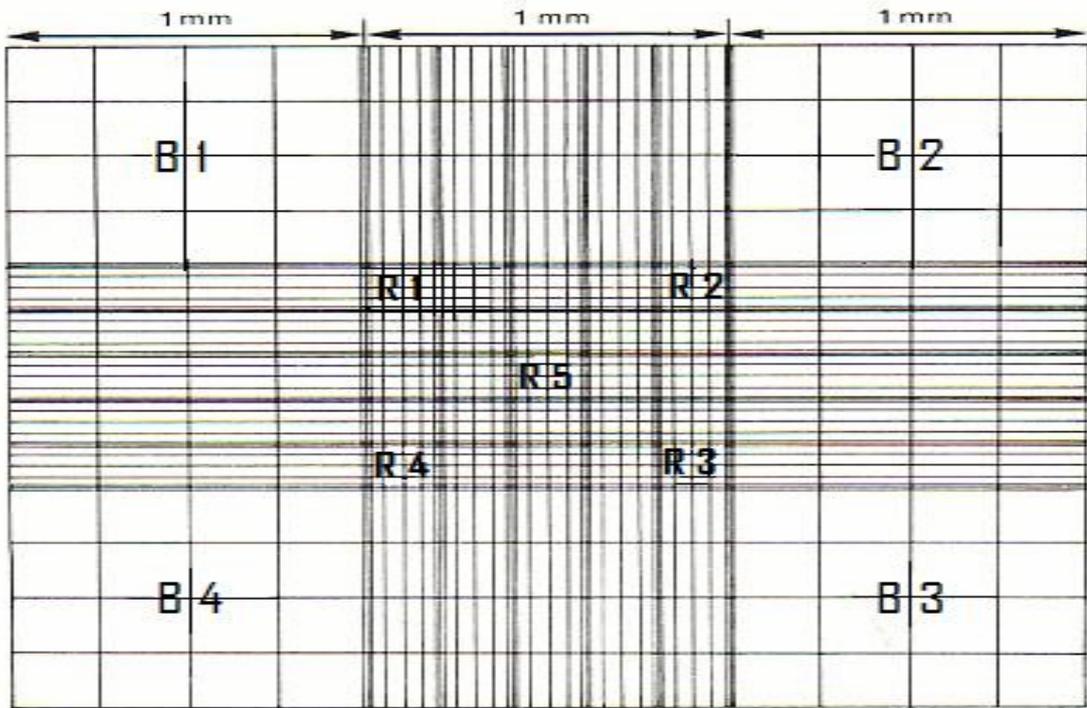
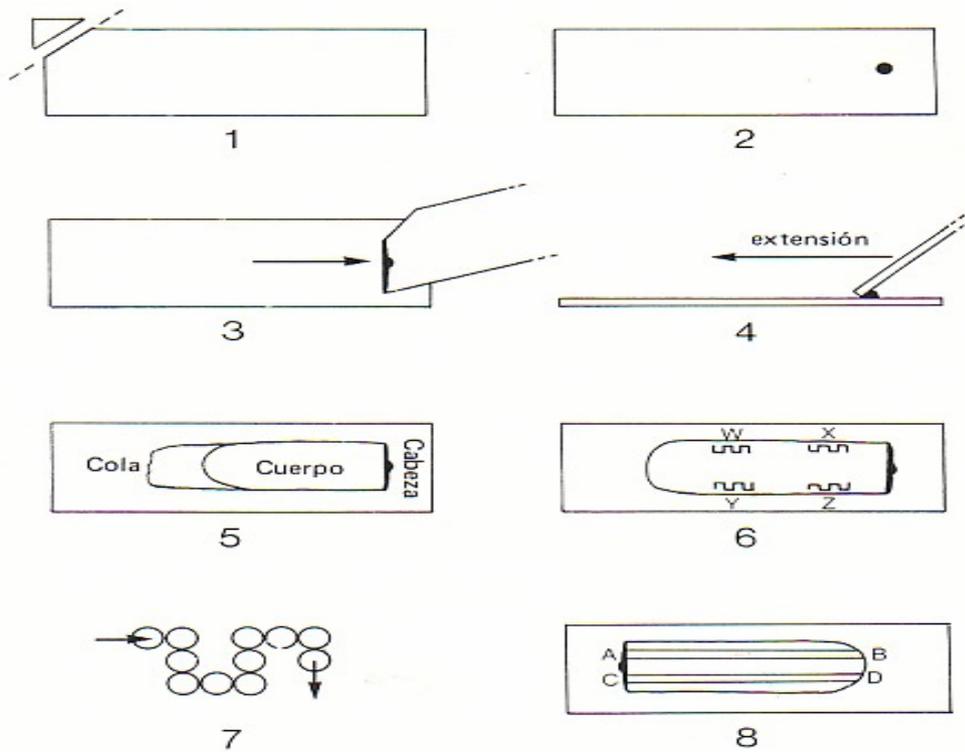


Figura 2. Extensión y lectura de un frotis sanguíneo. (Bush, B. M. 1982)

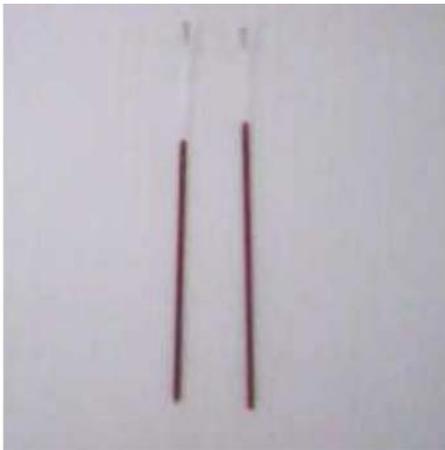




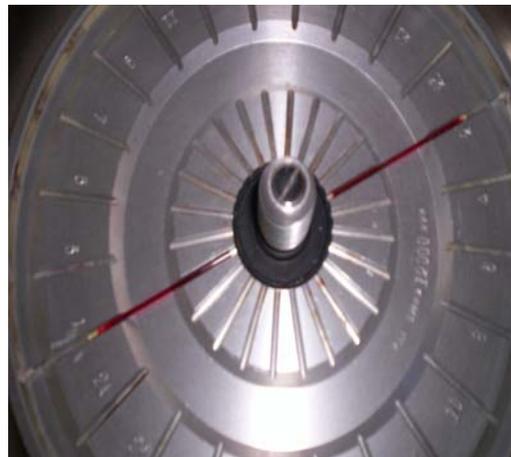
Toma de muestra de la vena yugular
(Veterinaria UNAN- León)



Recolección de la muestra en el tubo de ensayo
(Veterinaria UNAN- León)



Capilares conteniendo sangre
(Veterinaria UNAN- León)



Centrifugación de los capilares
(Veterinaria UNAN- León)



Lector de Microhematocríto. (Veterinaria UNAN- León)



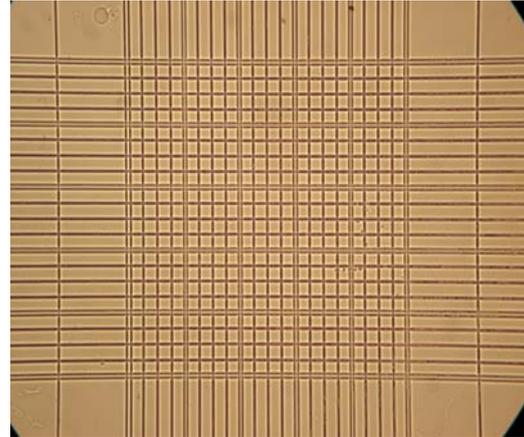
Refractómetro de Tres escalas.
(Veterinaria UNAN- León)



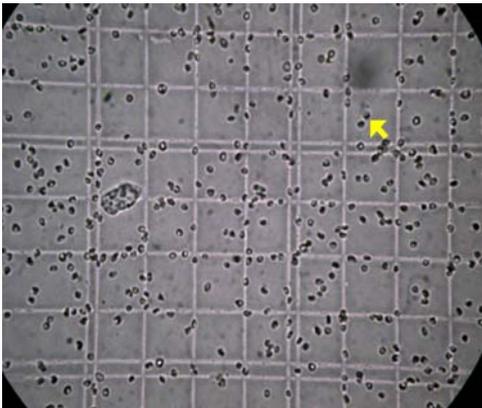
Baño María J P Selecta
(Veterinaria UNAN- León)



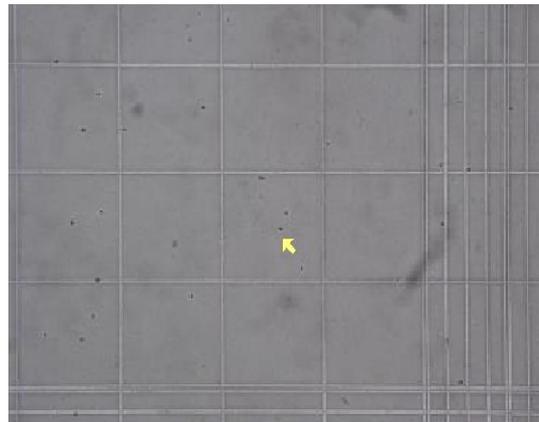
Pipetas de Thoma para dilución de Glóbulos rojos y Blancos.
(Veterinaria UNAN- León)



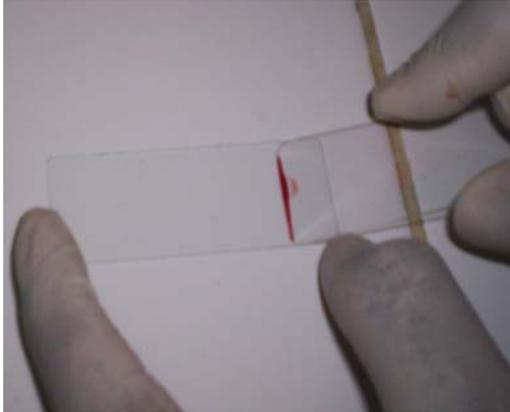
Cuadrantes de la Cámara de Neubauer para el conteo de Glóbulos rojos.
(Veterinaria UNAN- León)



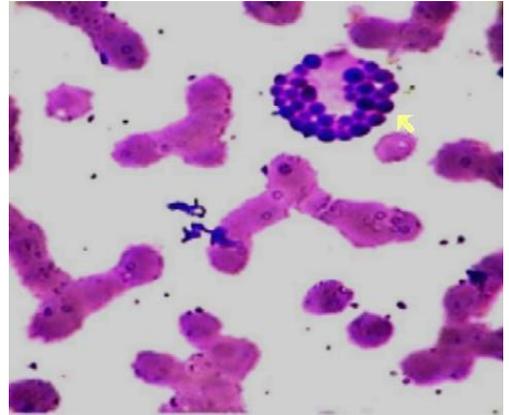
Glóbulos rojos vistos al microscopio.
Aumento de 40x.
(Veterinaria UNAN- León)



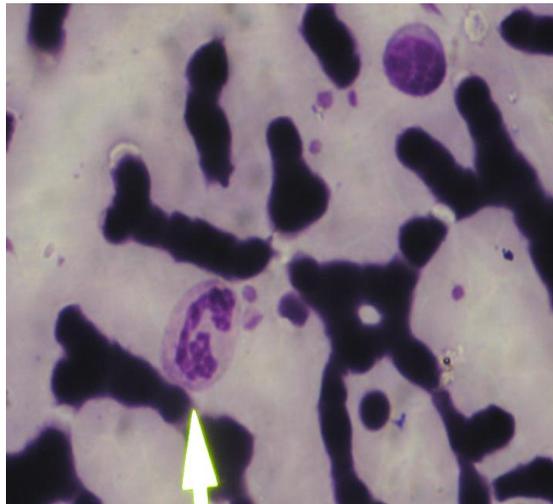
Glóbulos blancos vistos al microscopio.
Aumento de 10x.
(Veterinaria UNAN- León)



Preparación del frotis sanguíneo
(Veterinaria UNAN- León)
UNAN- León)



Eosinófilo visto al microscopio.
Aumento de 100x. (Veterinaria



Neutrófilo segmentado (a la izquierda Señalado con la flecha). Linfocito (parte superior derecha).
Aumento de 100x. (Veterinaria UNAN- León)



Lesión viva a nivel de la articulación de la cadera. (Veterinaria UNAN- León)



Lesión viva en la base del cuello. (Veterinaria UNAN- León)



Lesión viva a nivel de la punta de la grupa. (Veterinaria UNAN- León)



Caballo sujetado a un carretón. (Veterinaria UNAN- León)

Fuente: <http://209.15.138.224/inmonica/león.htm>

