



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



Valores hematológicos de referencia en equinos (*Equus ferus caballus*) de trabajo a dos diferentes altitudes en la Provincia de Cajamarca

TESIS

Para optar el Título Profesional de
MÉDICO VETERINARIO

Presentada por el Bachiller
GERSON LUCANO CHÁVEZ

Asesor
M.Sc. M.V. Fernando Alberto Oblitas Guayán

Cajamarca – Perú
2019



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
NORTE DE LA UNIVERSIDAD PERUANA
Fundada Por Ley N°14015 Del 13 De Febrero De 1962
UNIVERSIDAD LICENCIADA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
DECANATO

Av. Atahualpa 1050 – Ciudad Universitaria Edificio 2F – 205 Fono 076 365852



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Cajamarca, siendo las once horas con diez minutos del diez de septiembre del dos mil diecinueve, se reunieron en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias “César Bazán Vásquez” de la Universidad Nacional de Cajamarca, los integrantes del Jurado Calificador, designados por el Consejo de Facultad, con el objeto de evaluar la sustentación de Tesis Titulada: “**VALORES HEMATOLÓGICOS DE REFERENCIA EN EQUINOS (*Eqqus ferus caballus*), DE TRABAJO A DOS DIFERENTES ALTITUDES EN LA PROVINCIA DE CAJAMARCA**”, asesorada por el docente: **M.Sc. Fernando Alberto Oblitas Guayán** y presentada por el Bachiller en Medicina Veterinaria: **GERSON LUCANO CHÁVEZ**.

Acto seguido el Presidente del Jurado procedió a dar por iniciada la sustentación, y para los efectos del caso se invitó al sustentante a exponer su trabajo.

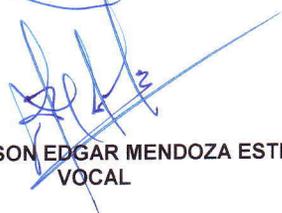
Concluida la exposición de la Tesis, los miembros del Jurado Calificador formularon las preguntas que consideraron convenientes, relacionadas con el trabajo presentado; asimismo, el Presidente invitó al público asistente a formular preguntas concernientes al tema.

Después de realizar la calificación de acuerdo a las pautas de evaluación señaladas en el Reglamento de Tesis, el Jurado Calificador acordó: **APROBAR** la sustentación de Tesis para optar el Título Profesional de **MÉDICO VETERINARIO**, con el Calificativo Final obtenido de **QUINCE (15)**.

Siendo las doce horas con cincuenta y cinco minutos del mismo día, el Presidente del Jurado Calificador dio por concluido el proceso de sustentación.


Dr. JORGE EDUARDO BURGA LEÓN
PRESIDENTE


Dr. JOSÉ FERNANDO CORONADO LEÓN
SECRETARIO


M.Cs. JIERSON EDGAR MENDOZA ESTELA
VOCAL


M.Sc. FERNANDO ALBERTO OBLITAS GUAYÁN
ASESOR



DEDICATORIA

Dedico este trabajo con satisfacción y gratitud:

A mis padres, por haberme apoyado y consejos en todo momento, y que la perseverancia es lo más importante para poder lograr las cosas que queremos.

A toda mi familia y amigos, por apoyarme en todo momento tanto económicamente y moralmente para poder lograr este proyecto.

GERSON



AGRADECIMIENTO

A Dios, en primer lugar por darme la vida para poder existir en este mundo y darme sabiduría e inteligencia porque sin él no soy nada.

Al M.Sc. M.V. Fernando A. Oblitas Guayán, por su conocimiento durante este trabajo de investigación.

Al M.V. Edwin Rojas Vargas, por apoyarme con los equinos de la PNP – Cajamarca.

Al personal de la PNP – Cajamarca, por haberme apoyado durante la recolección de las muestras para este trabajo de investigación.

GERSON



RESUMEN

El trabajo se realizó en el laboratorio de la Clínica Veterinaria “Huellitas” ubicado en la avenida Evitamiento N° 2230 de esta ciudad de Cajamarca 2019; el objetivo de este trabajo fueron establecer los valores hematológicos de referencia en equinos (*Equus ferus caballus*) de trabajo, a dos altitudes en la Provincia de Cajamarca, como también comparar si existe diferencia significativa; por medio de Hemogramas. Se analizó 40 muestras de sangre con anticoagulante EDTA, de equinos de trabajo, clínicamente sanos de la PNP (Policía Nacional de Perú) y se dividieron en dos grupos, 20 de la campiña de Cajamarca (2515 msnm) y 20 de Huacraruco (3280 msnm), considerándose los animales mayores o iguales a 2,5 años de edad. La obtención de la muestra de sangre se realizó mediante venopunción yugular por el sistema al vacío. Los valores de referencia son: Eritrocitos $6,4 - 10,0 \times 10^6/\mu\text{L}$; Hto. 33,8 - 45,0 %; Hb 11,2 - 14,8 g/dL; VCM 43,3 - 53,3 fL; CHCM 31,7 - 34,1 g/dL; HCM 14,3 - 17,15 pg, leucocitos $4,8 - 9,6 \times 10^3/\mu\text{L}$; N. segmentados 33,7 - 54,5 %; N. abastionados 0 - 4,5 %; eosinofilos 0 - 9 % basófilos 0 - 4,9 %; linfocitos 31,7 - 55,7 %; monocitos 0 - 1,5 % para Cajamarca; y eritrocitos $10,4 - 12,8 \times 10^6/\mu\text{L}$; Hto. 36,3 - 57,9 %; Hb 12,7 - 18,7 g/dL; VCM 32,3 - 48,7 fL; CHCM 31,8 - 35,0 g/dL; HCM 11,3 - 15,7 pg, leucocitos $8,7 - 13,9 \times 10^3/\mu\text{L}$; N. segmentados 35,2 - 51,6 %; N.abastionados 0 - 4,7 %; eosinofilos 0,7 - 6,7 % basófilos 0 - 2,4 %; linfocitos 26,3 - 46,7 %; monocitos 3,3 - 24,2 % para Huacraruco. Concluyéndose que los valores hematológicos de referencia determinados en Huacraruco, son mayores en la serie roja; como también en los leucocitos, N. segmentados, linfocitos y monocitos en comparación con los obtenidos en Cajamarca.

Palabras claves: Equinos, hemograma, altitud, comparación.



ABSTRACT

The work was carried out in the laboratory of the Veterinary Clinic "Huelltas" located on Evitamiento Avenue No. 2230 of this city of Cajamarca 2019; The objectives of this work were to establish the hematological reference values in equines (*Equus ferus caballus*) of work, at two altitudes in the Province of Cajamarca, as well as compare whether there is a significant difference; through blood count. 40 blood samples were analyzed with EDTA anticoagulant, from clinically healthy working equines of the PNP (National Police of Peru) and were divided into two groups, 20 from the Cajamarca countryside (2515 masl) and 20 from Huacraruco (3280 masl), considering animals older than or equal to 2,5 years of age. The blood sample was obtained by jugular venipuncture through the vacuum system. The reference values are: Erythrocytes $6,4-10,0 \times 10^6 / \mu\text{L}$; Hto. 33,8-45,0%; Hb 11,2-14,8 g/dL; VCM 43,3-53,3 fL; CHCM 31,7-34,1 g/dL; HCM 14,3-17,15 pg; leukocytes $4,8-9,6 \times 10^3/\mu\text{L}$; N. segmented 33,7-54,5%; N. stocked 0-4,5%; eosinophils 0-9%; basophils 0-4,9%; lymphocytes 31,7-55,7%; monocytes 0-1,5% for Cajamarca; and erythrocytes $10,4-12,8 \times 10^6/\mu\text{L}$; Hto. 36,3-57,9%; Hb 12,7-18,7 g/dL; VCM 32,3-48,7 fL; CHCM 31,8-35,0 g/dL; HCM 11,3-15,7 pg; leukocytes $8,7-13,9 \times 10^3/\mu\text{L}$; N. segmented 35,2-51,6%; N. Sebastian 0-4,7%; eosinophils 0,7-6,7% basophils 0-2,4%; lymphocytes 26,3-46,7%; monocytes 3,3-24,2 % for Huacraruco. Concluding that the hematological reference values determined in Huacraruco, are higher in the red series; as well as in leukocytes, N. segmented, lymphocytes and monocytes compared to those obtained in Cajamarca.

Keywords: Equine, blood count, altitude, comparison.



ÍNDICE

DEDICATORIA
AGRADECIMIENTO
RESUMEN
ABSTRACT

	Pág.
CAPÍTULO I	
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II	
MARCO TEÓRICO	3
2.1. ANTECEDENTES	3
2.2. EL CABALLO CRIOLLO	5
2.3. CABALLO DE TRABAJO DE LA POLICÍA NACIONAL DEL PERÚ	6
2.4. LA ADAPTACIÓN	6
2.5. LA SANGRE	7
2.5.1. Definición	7
2.6. COMPOSICIÓN DE LA SANGRE	7
2.6.1. ERITROCITOS	7
2.6.1.1. Eritropoyesis	8
2.6.1.2. Origen de los eritrocitos	9



2.6.1.3. Regulación de la eritropoyesis	9
2.6.1.4. Destrucción de los eritrocitos	9
2.6.1.5. Hematocrito	10
2.7. LA HEMOGLOBINA	10
2.7.1. Estructura, síntesis y metabolismo de la hemoglobina	10
2.8. LEUCOCITOS	12
2.8.1. Neutrófilos	12
2.8.2. Eosinófilos	13
2.8.3. Basófilos	14
2.8.4. Monocitos	14
2.8.5. Linfocitos	15
2.9. ÍNDICES HEMATIMÉTRICOS	15
2.10. VALORES HEMATOLÓGICOS REFERENCIALES EN EQUINOS	17
CAPÍTULO III	
MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1. LOCALIZACIÓN	21
3.2. MATERIALES	23
3.2.1. Materiales biológicos	23
3.2.2. Materiales de laboratorio	23
3.2.3. Reactivos	24
3.3. METODOLOGÍA	25



3.3.1. Obtención de la muestra	25
3.3.2. Del número de muestras	25
3.3.3. Parámetros evaluados en el hemograma	26
3.4. Diseño estadístico	27
CAPÍTULO IV	
RESULTADOS	28
CAPÍTULO V	
DISCUSIÓN	32
CAPÍTULO VI	
CONCLUSIONES	35
CAPÍTULO VII	
RECOMENDACIONES	36
CAPÍTULO VIII	
LISTA DE REFERENCIAS	37
ANEXO 1. REGISTROS DE EQUINOS	41
ANEXO 2. MÉTODO PARA HEMOGRAMA	42
ANEXO 3. PANEL FOTOGRÁFICO	50
ANEXO 4. ESTUDIO ESTADÍSTICO	53



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

En la región de Cajamarca, según el III Censo Nacional Agropecuario de 1994, existen 104 110 unidades agropecuarias y dentro estas se crían 510 187 equinos (INEI, 1995).

La interpretación correcta del análisis clínico, requiere de valores hematológicos de referencia que sean de la población de origen debido a las importantes variables relacionadas al manejo, ambiente o genética. Así, cada raza equina expresará características fenotípicas y metabólicas específicas relacionadas con el tipo de actividad que desarrollan (Díaz, *et al.*, 2011).

Los análisis hematológicos en altitudes diferentes tienen mucha importancia en medicina veterinaria, ya que es importante conocer cómo influye la variación de la presión atmosférica a diferentes altitudes sobre el nivel del mar, y sobre el organismo de cada especie animal, en este caso los equinos (Luna, *et al.*, 2018).

Son muchos aspectos del medio ambiente que varían a medida que la altitud aumenta o disminuye, como la presión atmosférica (PA), o también conocida como la presión barométrica (PB), la presión parcial de oxígeno (PO₂), la temperatura (T°), alimentación, entre otras (Cárdenas, 2003; Quispe y Nano, 2007).



La patología clínica en equinos es muy importante ya que nos ayuda a formular pronósticos, monitoreo de tratamientos, prevención de medicina preventiva, cumplimiento de regulaciones gubernamentales para el tránsito de animales y particularmente a la evaluación del desempeño físico (Díaz, *et al.*, 2011).

El objetivo de esta investigación fue establecer los valores hematológicos de referencia en equinos (*Equus ferus caballus*) de trabajo, a dos altitudes en la Provincia de Cajamarca.



CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

Un estudio realizado en 76 equinos procedentes de Lima (cruce de Equino pura sangre con yeguas cruzadas), clasificados por sexo (45 machos y 31 hembras), con edades que fluctúan entre cero días a cuatro años de edad. Concluyendo que el potrillo de pocos días de nacido, posee mayores valores hematológicos en cuanto a eritrocitos, hematocrito y hemoglobina, que en el animal adulto; además estos valores aumentan en forma progresiva hasta los tres meses, disminuyendo paulatinamente en animales de mayor edad. El número de leucocitos en animal joven guarda mucha diferencia con el adulto, notándose un ligero incremento hasta los seis meses de edad, para disminuir posteriormente. En cuanto al recuento diferencial son semejantes tanto en potrillos como en adultos (Vives, 1951).

Un estudio realizó en 100 equinos (50 capones y 50 hembras) que habitan en la sierra central de Puno a una altitud 3833 – 4000 msnm, pertenecientes a la cooperativa Cerro de Pasco Corporation; todos los animales clínicamente sanos no se encontró diferencia significativa en cuanto a los valores hematológicos entre machos castrados y hembras (Salazar, 1958).

Las constantes hematológicas estudiadas en 40 Equinos de Paso Peruano de la ciudad de Cajamarca – Perú (8 machos castrados, 12 enteros y 20 yeguas) cuyas edades fluctúan entre 2,5 – 5 años, todos clínicamente sanos, reportan los siguientes resultados: Machos enteros: eritrocitos $8,43 \times 10^6/\mu\text{l}$, Hematocrito 43,30%, hemoglobina 15,45 g/dl, glóbulos blancos $9,71 \times 10^3/\mu\text{l}$, neutrófilos segmentados 49,14%, eosinófilos 8,85%, monocitos 3,71% y linfocitos. 36,71%. Machos castrados: eritrocitos $7,90 \times 10^6/\mu\text{l}$, Hematocrito 40,8%, hemoglobina 14,62g/dl, glóbulos blancos $9,16 \times 10^3/\mu\text{l}$, neutrófilos segmentados 47,5%, eosinófilos 10,6%, basófilos 0,87%, monocitos 5,12% y linfocitos 36,71%. Yeguas: glóbulos rojos $8,11 \times 10^6/\mu\text{l}$, Hematocrito 40,8%, hemoglobina 14g/dl, glóbulos blancos $9,26 \times 10^3/\mu\text{l}$, neutrófilos segmentados 50,60%, eosinófilos 7,57%, basófilos 1,07%, monocitos 3,71% y linfocitos 36,71% (Barrantes, 1978).

Una investigación publicada en septiembre del 2018 en la región litoral del Ecuador (provincias de Santo Domingo de los Tsáchilas, Manabí, Los Ríos y Esmeraldas), se analizó los hemogramas de 100 caballos criollos clínicamente sanos, mayores a dos años de edad y criados entre los 0 y 500 msnm, los objetivos fueron determinar los valores hematológicos de referencia y comparar los resultados obtenidos con los valores de un estudio previo realizado a más de 3000 msnm en la sierra centro norte ecuatoriana. Al comparar los resultados obtenidos se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) en el conteo de eritrocitos, concentración de hemoglobina, hematocrito y conteo de plaquetas debido a la ausencia de la altitud; también se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la serie blanca (leucocitos, linfocitos, monocitos y granulocitos) pero esto debido a influencias fisiológicas o patológicas, más no al efecto altitudinal (Luna *et al.*, 2018).

2.2. EL CABALLO CRIOLLO

Según la clasificación científica, el equino doméstico se denomina *Equus ferus caballus* (Sánchez, 2006).

La alzada de estos caballos comúnmente es de 140 centímetros, llegando a alcanzar los 145 cm. Las capas comunes que presentan estos caballos son el castaño, el negro, los grises y el bayo. Si bien las características de este caballo no se encuentran muy bien definidas, se puede decir que en general son caballos de cuerpo muy musculoso y compacto. Gracias a esto son especialmente usados en tareas de carga. Su cuerpo si bien es muy fuerte no es muy grande. Es en todo caso un caballo proporcionado, ya que sus extremidades como la cabeza o las patas, tampoco son ni muy grandes ni muy largas. Los caballos criollos son los caballos de América latina. Estos caballos tienen su origen en estas tierras, pero descienden directamente de caballos traídos en la conquista de los españoles en el ciclo XVI. Cuando los españoles llegaron a América trajeron consigo varios caballos. Algunos de ellos al verse abandonados se adaptaron a la vida salvaje del continente y así surgió el caballo criollo. Dentro de las razas abandonadas se encontraban caballos árabes, también portugueses e ibéricos, y al cruzarse dieron origen al criollo. Luego estos caballos fueron de nuevo adaptados a la compañía humana hasta que en la actualidad son compañeros infaltables de muchas familias. Dentro de los usos comunes actuales de estos caballos se encuentra la monta. Otros usos también son el negocio ganadero y deportes como el polo (Sánchez, 2006).

2.3. CABALLO DE TRABAJO DE LA POLICÍA NACIONAL DEL PERÚ (PNP)

Estos caballos han sido cruzados con caballo criollo Argentino y el caballo Pura Sangre Inglés, a mediados del año de 1930, así como pasaron los años y fueron seleccionados hasta que lograron tener sus propias características físicas, como: Comúnmente tienen una alzada de 155 a 160 cm, son fuertes, compactos y musculosos. Su desempeño es el trabajo, patrullaje y guardianía.

2.4. LA ADAPTACIÓN

Para que un organismo logre adaptarse a distintos pisos altitudinales, éste debe desarrollar ciertos cambios homeostáticos, principalmente en los sistemas cardiovascular, respiratorio y hematológico. Los mecanismos mediante los cuales se produce la adaptación a una mayor altura son: Aumento de la frecuencia respiratoria, aumento de la ventilación pulmonar, aumento de la capacidad de difusión pulmonar, aumento de la vascularización de los tejidos periféricos, aumento en el número de eritrocitos y aumento de la capacidad de las células tisulares para utilizar el oxígeno disponible a pesar de la baja presión de oxígeno; todo esto con el fin de que el organismo aumente su capacidad de captación y movilización de aire y oxígeno atmosférico a pesar de las distintas condiciones ambientales (González, 2001; Cárdenas, 2003; Guyton y Hall, 2016).

En grandes alturas, donde la presión atmosférica disminuye y la cantidad de oxígeno es muy reducida, se enfrentan a una hipoxia tisular la cual favorece la secreción de eritropoyetina, que es una glicoproteína que estimula la formación de eritrocitos, hemoglobina y



hematocrito (Suárez, 2001; Barranco *et al.*, 2002; Quispe y Nano, 2007).

2.5. LA SANGRE

2.5.1. Definición

La sangre se define como un líquido viscoso de color rojo, también se le conoce como un tejido circulante especializado, compuesto de células suspendidas en una sustancia intracelular líquida. A diferencia de otros tejidos, las células no conservan una relación especial permanente entre sí, si no que se mueve continuamente de un lugar a otro. La circulación de la sangre a través del cuerpo proporciona un medio ambiente constante, en el que todas las células y tejidos realizan sus diversas funciones. De esta forma, la función principal de la sangre es mantener la homeostasis. La sangre está compuesta una parte líquida llamada (plasma) y otra celular compuesta de elementos formes, células y fragmentos celulares (Oblitas, 2017; Dellman y Brown, 1980).

La sangre se le considera integrante del tejido conjuntivo porque tiene origen embriológico proveniente del mesénquima, tejido primitivo formado por células indiferenciadas y pluripotentes (Montalvo, 2018).

2.6. COMPOSICIÓN DE LA SANGRE

2.6.1. Eritrocitos

Los eritrocitos de los mamíferos son anucleados, mientras que en el resto de los vertebrados son células rojas nucleadas. En las especies domésticas (perro, gato, vaca, caballo, oveja y cabra) han sido

encontrados eritrocitos bicóncavos, pero el grado de concavidad varía; los típicos están presentes en los perros, vacas y ovejas, mientras que en los caballos y gatos los eritrocitos presentan una concavidad menor, y en la cabra la mayoría de los eritrocitos tiene una ligera depresión en la superficie. Los eritrocitos tienen forma elíptica, en los equinos se agrupan formando hileras que semejan pilas de monedas (rouleaux), en las aves son nucleados (Núñez y Bouda, 2007).

El diámetro del eritrocito en equino es 5,7 micrometros (Núñez y Bouda, 2007).

El método más empleado en el recuento de eritrocitos es a través de la cámara cuenta glóbulos o de Neubauer, eso tiene un alto porcentaje de error (8%) producidos por variación de pipetas, cámaras, la distribución de los eritrocitos. Los eritrocitos se expresan en $10^6/\mu\text{L}$ (Wittwwer y Bohmwald, 1987).

2.6.1.1. Eritropoyesis

Se ha postulado que la célula indiferenciada pluripotencial en la médula ósea produce células unipotenciales, que posteriormente darán origen a los eritrocitos, granulocitos, monocitos, o a los megacariocitos. Los eritrocitos son producidos por división mitótica y maduración de los rubriblastos en una secuencia definida: rubriblasto, prorubricito, rubricito basófilo, rubricito policromático, rubricito normocrómico, metarubricito, reticulocito y eritrocito maduro. Cada rubriblasto puede dividirse en tres o cuatro mitosis y dar origen con ello a 8 ó hasta 16 células maduras. Conforme van madurando, las células se hacen más pequeñas, su núcleo se condensa y su citoplasma cambia de azul oscuro a rojo naranja (Núñez y Bouda, 2007).

2.6.1.2. Origen de los eritrocitos

En la primera semana de vida embrionaria los eritrocitos se producen a nivel del saco vitelino. Durante el trimestre central de la gestación, es el hígado principal órgano productor de eritrocitos, también producen eritrocitos el bazo y los ganglios linfáticos. Durante la parte de gestación y después del nacimiento se produce a nivel de la médula ósea de los huesos largos (Núñez y Bouda, 2007).

2.6.1.3. Regulación de la eritropoyesis

En mamíferos, la eritropoyesis ocurre de manera extravascular en la médula ósea del hueso, la cual tiene la capacidad de aumentar la eritropoyesis y la producción de eritrocitos hasta siete veces, lo cual es normal en humanos, se provee esta estimulación si es necesaria y si los nutrientes están presentes. Esto es mayor en aves y caninos, y menor en caballos (Latimer *et al.*, 2003). El principal factor que estimula la producción de eritrocitos es la eritropoyetina, una hormona glucoprotéica circulante cuyo peso molecular es del orden de 34000 daltons. En ausencia de eritropoyetina, la hipoxia o bien no tiene efecto estimulante de la producción de eritrocito, su efecto es muy pequeño. Por otra parte, cuando funciona bien el sistema de la eritropoyetina, la hipoxia induce un gran aumento de la producción de esta hormona que a su vez eleva la producción de eritrocitos hasta que desaparece la hipoxia (Guyton y Hall, 2016).

2.6.1.4. Destrucción de los eritrocitos

Debido a la carencia de organelos, los eritrocitos pierden la capacidad para sintetizar nuevos componentes de membrana. Cuando pasan por la circulación, en especial por el bazo, suelen perder parte del

plasmalema (membrana plasmática), se gastan sus reservas enzimáticas y adoptan, con el tiempo, la forma esférica. En consecuencia, no toleran la gran deformación necesaria para realizar su función y se hacen más frágiles, por lo que después de una vida media (que varía de acuerdo con la especie), los eritrocitos modificados por la edad se eliminan del torrente circulatorio y son degradados por los macrófagos, principalmente los del bazo, pero los macrófagos del hígado y la médula ósea participan también. El hierro liberado de la hemoglobina se utiliza nuevamente y, junto con el hierro de la dieta, ingresa a la producción de nueva hemoglobina para los nuevos eritrocitos (Núñez y Bouda, 2007).

2.6.2. Hematocrito

El hematocrito se define como el volumen que ocupan los eritrocitos contenidos en 100 ml de sangre (expresado en porcentajes). Se obtiene al centrifugar la sangre con anticoagulante en un capilar de microhematocrito para conseguir la separación de ésta en sus tres componentes principales (Rebar *et al.*, 2002).

2.7. LA HEMOGLOBINA

2.7.1. Estructura, síntesis y metabolismo de la hemoglobina

La hemoglobina es el pigmento rojo del eritrocito. La concentración normal aproximada es de 80 a 150 g/L en el gato y la vaca, de 120 a 180 g/L en el perro y de 111 a 190 g/L en el caballo, por mencionar algunas especies (Núñez y Bouda, 2007).

La hemoglobina es una proteína de estructura cuaternaria, formada por cuatro cadenas proteicas o globinas homólogas 2 alfa y 2 beta

(Opencoursewere, 2017). La primera evidencia de que existe más de un tipo de Hb se remonta a la mitad del siglo XIX, cuando fue comunicado que los sujetos humanos recién nacidos poseían un tipo de hemoglobina denominada fetal (Hb-F). Posteriores, investigaciones en medicina veterinaria se confirmaron que en los animales hay, además de la Hb-F y Hb-A, una hemoglobina embrionaria (Hb-E) (Núñez y Bouda., 2007; Brandan *et al.*, 2008).

La biosíntesis de la Hb guarda estrecha relación con la eritropoyesis. La expresión genética y el contenido de Hb acompañan la diferenciación de las unidades formadoras de colonias eritroides (UFC - E) en precursores eritroides (Brandan, *et al.*, 2008).

La síntesis del grupo hem: Se lleva a cabo en las mitocondrias, por lo que solamente ocurre en eritrocitos inmaduros, previos al estadio de reticulocitos. Además, es un proceso unidireccional, irreversible y controlado en las primeras etapas a través de la vía ácido aminolevulínico sintetasa, cuya formación es inducida por una disminución en la concentración de hem. Ciertos excesos o deficiencias enzimáticas de esta vía pueden conducir a porfiria (producción excesiva de porfirinas y sus precursores). El plomo inhibe varios pasos enzimáticos, entre otros, al ácido aminolevulínico dehidratasa. Por otro lado, el cloranfenicol interfiere la ferroquelalasa (Núñez y Bouda, 2007).

Usualmente, se considera que estas variables se correlacionan bien y que ambas se encuentran disminuidas en la anemia. La relación Hb-Hto, consiste en calcular el valor de la Hb al dividir el Hto entre un factor usualmente entre 3,0 y 3,3; y la relación inversa de obtener el Hto a partir de multiplicar la concentración de Hb por este factor. La creencia de que el valor del hematócrito es equivalente a 3 veces la concentración de hemoglobina es una proporción matemática que solo

se cumple en los individuos "normales", con valores "normales" de Hb y Hto, y eritrocitos "normocíticos normocrómicos". De manera que en pacientes con anemia esta relación puede dejar de cumplirse. Por lo tanto, su uso como rutina en el laboratorio clínico no es aconsejable Barrios *et al* (2010).

2.8. LEUCOCITOS

Los leucocitos son células, que, a diferencia de los eritrocitos humanos, sí poseen núcleo y una serie de organelos citoplasmáticos. Se les conoce también como glóbulos blancos porque carecen de pigmentos. Cuando están agrupados, exhiben un color blanquecino cremoso (Montalvo, 2018).

Los leucocitos son células sanguíneas verdaderas, puesto que tienen núcleo, al contrario de lo que sucede con los hematíes o las plaquetas. Son las unidades móviles del sistema de protección (o sistema inmune); tienen mayor tamaño que los hematíes y están presentes en la circulación en un número mucho menor (Wittwer y Bohmwald, 1897).

Una gran parte de ellos madura en la médula ósea (granulocitos, monocitos y linfocitos B) y el resto en el timo (linfocitos T). Hay 2 grandes tipos de leucocitos según contengan o no gránulos en el citoplasma (Benjamín, 1990).

2.8.1. Neutrófilos

La célula encargada de la producción de neutrófilos y monocitos es conocida como unidad formadora de colonias granulocito - monocito (UFC - gm); esta etapa temprana es bipotencial, por tanto, requiere de estimulación para que se diferencie en células unipotenciales UFC - g y

UFC - m comprometidas con la producción de células precursoras de neutrófilos o de monocitos, respectivamente (Núñez y Bouda, 2007).

Son las células más abundantes. En condiciones normales, existen en un porcentaje del 55% al 60% del total de leucocitos; es decir, que hay de 3,000 a 6,000 neutrófilos por mililitro de sangre. Los neutrófilos miden aproximadamente de 12 a 15 micrómetros de diámetro (Montalvo, 2018).

En el citoplasma, los neutrófilos poseen gránulos específicos que se tiñen, de un color violeta, con una mezcla de colorantes ácidos (eosina) y básicos (azul dimetileno) y gránulos inespecíficos o azurófilos. Sus núcleos son lobulados y pueden tener de 3 a 6 lóbulos; el número de los lóbulos depende de la edad de la célula (Montalvo, 2018).

Los neutrófilos en las distintas especies son muy similares. La principal excepción es que el citoplasma de los neutrófilos de bovinos se tiñe de una rosa más intensa en comparación con otras especies. Así mismo, los segmentos del núcleo no suelen ser muy perceptibles (Willam *et al.*, 2016).

2.8.2. Eosinófilos

Los eosinófilos están presentes en cantidades más reducidas o ausentes en los animales sanos. Son normalmente el mismo tamaño de los neutrófilos o ligeramente más grandes, los núcleos son muy similares a los neutrófilos puesto que están segmentados a menudo no están bien definidos. Los eosinófilos en equinos tienen grandes gránulos redondos ovoides u oblongos que llenan el citoplasma y a veces enmascaran el núcleo (Willam *et al.*, 2016).

2.8.3. Basófilos

Los basófilos no han sido investigados tan extensivamente como otras células debido a que son escasos en la sangre periférica y en la médula ósea; consecuentemente, poco se conoce de su producción, función y respuesta en las enfermedades. Su secuencia de maduración es similar a la descrita para los neutrófilos (Núñez y Bouda, 2007). Su producción es antígeno-específica y está regulada por sustancias producidas por los linfocitos “T” activados. Pero, se ven con más frecuencia en los caballos. Tanto en vacunos y equinos los basófilos tienen varios gránulos pequeños bien teñidos de color púrpura en el citoplasma (Willam *et al.*, 2016).

2.8.4. Monocitos

Los monocitos derivan de la célula progenitora pluripotencial en la médula ósea, permanecen poco tiempo en la circulación y emigran al azar a varios tejidos y cavidades corporales, transformándose posteriormente en macrófagos (Núñez y Bouda, 2007).

Los monocitos descienden de la célula progenitora bipotencial, la unidad formadora de colonias granulocito-monocito (UFC - gm) (Núñez y Bouda, 2007).

La fase madura es el monocito, que por lo general tiene de 16 a 20 micras de diámetro, posee un núcleo grande amorfo, la cromatina nuclear está distribuida en forma de listones y bandas, presenta uno o dos pequeños nucléolos, su citoplasma es abundante, de color azul grisáceo, contiene numerosas vacuolas, especialmente en un extremo de la célula; es muy frecuente detectar pseudópodos en la membrana celular, lo cual refleja su actividad motriz (Núñez y Bouda, 2007).

2.8.5. Linfocitos

Los linfocitos representan un grupo heterogéneo de células encargadas de iniciar y ejecutar la respuesta inmune; las células plasmáticas que tienen su origen en los linfocitos B producen anticuerpos. Pueden ser clasificados con diferentes criterios: Con base en el tamaño celular, se dividen en pequeños (6 a 9 micras) y grandes (9 a 15 micras); considerando su periodo de vida, se clasifican en los de corta y larga vida; sobre la base de las diferencias funcionales en la respuesta inmune, se les clasifica como B y T, y en células nulas que ni son B ni son T. Los linfocitos son producidos en la médula ósea y en los órganos linfoides, en los que se incluyen el timo, los nódulos linfoides, el bazo (Nuñez y Bouda, 2007).

2.9. ÍNDICES HEMATIMÉTRICOS

Los índices eritrocitos definen el tamaño y el contenido de hemoglobina del eritrocito de valores obtenidos por la cuenta eritrocítica, la concentración de hemoglobina y el hematocrito; estos índices son obtenidos mediante cálculos matemáticos y son los siguientes:

2.9.1. Volumen Corpuscular Medio (VCM)

Expresa el volumen promedio del eritrocito individual, es una forma de calcular el tamaño del eritrocito, y se calcula con la siguiente fórmula:

$$VCM = \frac{\text{Hematocrito}}{\text{N}^\circ \text{ eritrocitos}} \times 10$$

El resultado expresa el volumen medio del eritrocito en fentolitros (fl) (Benjamín, 1990).

2.9.2. Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM)

Es la concentración de hemoglobina en el eritrocito promedio o la proporción del peso de la hemoglobina y el volumen en el cual está contenido; se calcula con la siguiente formula:

$$(CHCM): HCM = \frac{\text{Hemoglobina}}{\text{Hematocrito}} \times 100$$

El resultado se expresa en gramos por decilitro (g/dl) (Benjamín, 1990).

2.9.3. Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)

Es una medida de la masa de la hemoglobina contenida en un glóbulo rojo y se expresa en picogramos (pg). Se usa la siguiente formula (Benjamín, 1990).

$$HCM = \frac{\text{Hemoglobina}}{\text{N}^\circ \text{ eritrocitos}} \times 10$$

2.10. VALORES HEMATOLÓGICOS REFERENCIALES PARA LA ESPECIE EQUINA

Un trabajo realizado en Caballo de Paso Peruano criado en el valle de Cajamarca, dio los siguientes valores hematológicos normales (2536 a 2538 msnm) en el año 1978 y se muestra en el cuadro 1 y 2 (Barrantes, 1978).

Cuadro 1. Constantes hematológicas (serie roja) del Caballo de Paso Peruano.

Constantes Hematológicas	Unidad	Media	DE (±)	Valores extremos
Eritrocitos	10 ⁶ /μL	8,15	0,15	6,06 – 10,94
Hematocrito	%	41,57	0,92	34,00 – 49,00
Hemoglobina	g/dL	14,69	0,41	10,0 – 20,10
VCM	fL	51,33	0,41	34,93 – 64,46
HCM	pg	18,23	0,11	12,28 – 30,74
CHCM	g/dL	35,51	0,03	28,75 – 47,69
Tiemp. Coagul. En segund.	Sg.	16,85	0,30	9,0 – 34,00

DE: desviación estándar; VCM: volumen corpuscular medio; HCM: hemoglobina corpuscular media; CHCM: concentración de Hemoglobina corpuscular media.

Cuadro 2. Constantes hematológicas (serie blanca) del Caballo de Paso Peruano.

Constantes Hematológicas	Unid.	Media	DE (±)	Valores extremos
Glob. Blancos	10 ³ /μL	9,38	0,17	7,30 – 12,40
Neutrófilos encayados	%	0,29	0,005	0 – 2
Neutrófilos Segmentados	%	49,09	0,91	32 – 61
Eosinófilos	%	9,01	0,88	3 – 15
Basófilos	%	0,78	0,19	0 – 4
Monocitos	%	4,18	0,47	1 – 13
Linfocitos	%	36,59	0,60	23 – 49

Unid: unidad; DE: desviación estándar.

Un estudio realizado en equinos (*Equus caballus*) criados en condiciones de altura, en el distrito de Encañada (3098 msnm) en provincia y región Cajamarca. Como se muestra en el cuadro 3 (Coba. 2004).

Cuadro 3. Constantes hematológicas en equinos en altura.

Constantes Hematológicas	Unid.	Edad en meses				x̄
		6 – 24	25 – 60	61 – 108	109 a más	
Eritrocitos	10 ⁶ /μL	9,27	8,75	8,42	8,13	8,64
Hematocrito	%	41,10	39,10	38,80	38,70	39,43
Hemoglobina	g/dL	13,47	12,86	12,61	12,45	12,85
VCM	fL	44,37	44,71	46,07	47,58	45,68
HCM	pg	14,54	14,70	14,97	15,30	14,88
CHCM	g/dL	32,67	32,88	32,50	32,16	32,55
Leucocitos	10 ³ /μL	9,34	8,78	8,48	8,18	8,69
Basófilos	%	1,30	1,60	2,00	1,30	1,55
Eosinófilos	%	5,80	7,10	6,60	6,50	6,50
Neutrófilos	%	44,80	43,50	47,50	47,10	45,73
N. baciloformes	%	1,40	1,60	4,00	1,00	2,00
Linfocitos	%	43,60	42,70	39,70	40,30	41,58
Monocitos	%	4,50	5,10	4,20	4,80	4,65

VCM: volumen corpuscular medio; HCM: hemoglobina corpuscular medio; CHCM: concentración de Hemoglobina corpuscular medio, x̄: promedio.

Un estudio realizado Caballos Peruanos de Paso del valle de Lurín, Lima como se muestra en los cuadros 4 y 5 (Díaz *et al.* ,2011).

Cuadro 4. Valores hematológicos medios, máximos, mínimos y desvío estándar de la serie roja.

Grup.	GR (x 10 ⁶ /μl)	Hb (g/dL)	Hto (%)	VCM (fL)	CHCM (g/dL)
M.	8,7 ± 0,9	14,2 ± 1,6	41,9 ± 4,8	48,4 ± 4,1	33,9 ± 0,7
Sexo H.	8,2 ± 0,9	13,7 ± 1,4	40,0 ± 4,3	48,1 ± 6,3	34,2 ± 0,7
J.	8,5 ± 0,9	13,4 ± 1,5 ^a	39,7 ± 4,9	46,5 ± 2,7 ^a	33,9 ± 0,7 ^a
Edad A.	8,1 ± 0,8	14,3 ± 1,4 ^b	41,7 ± 4,1	50,1 ± 6,7 ^b	34,4 ± 0,7 ^b
Total	8,3 ± 0,9	13,9 ± 1,5	40,7 ± 4,6	48,4 ± 5,5	34,1 ± 0,7
	(6,5– 10,4)	(11,4–17,1)	(33,3– 2,0)	(20,7–57,8)	(32,8-35,6)

^{a, b} superíndices diferentes dentro de las columnas son estadísticamente diferentes (p<0,05)

VCM: volumen corpuscular medio; CHCM: concentración de Hemoglobina corpuscular media; M: macho; H: hembra; J: joven; A: adulto.

Cuadro 5. Valores leucocitarios medios y desvío estándar en equinos de la raza Caballo Peruano de Paso.

Grupo	GB (/μL)	Ab (/μL)	Seg (/μL)	Eos (/μL)	Mon (/μL)	Lin (/μL)
Sexo M	8635±2310	0±0	4233±1232	163±203	249±147 [?]	3985±1575
H	9236±1365	2±13	4429±950	197±174	173±141 [?]	4430±1261
Edad J	9443±1992	0±0	4179±1116	114±107*	195±143	4953±1315*
A	8503±1440	5±20	4523±952	240±211*	207±148	3523±1119*
Total	8944±1767	3±15	4361±1036	181±181	202±44	4195±1402

? P<0,05 en relación al sexo y * P<0,05 en relación a la edad.

GB: globulos rojos; Ab: neutrófilos abastionados; Seg: neutrófilos segmentados; Eos: eosinofilos; Mpn: monocitos; Lin: linfocitos.

Cuadro 6. Valores hematológicos de caballos criollos.

Parámetro	Unidad	Media	Mediana	DE	Mínimo	Máximo
Eritrocitos	10 ⁶ /μL	6,96	6,87	1,07	4,9	9,38
Hemoglobina	g/dL	11,46	11,3	1,58	8,59	14,87
Hematocrito	%	33,87	33,15	4,97	24,83	45,1
VCM	fL	48,86	48,55	3,15	42,35	55,19
HCM	pg	16,52	16,6	0,98	14,25	18,2
CHCM	g/dL	33,95	33,9	1,17	32,1	36,7
Leucocitos	10 ³ /μL	6,16	9,0	1,84	5,64	12,81
Lym	10 ³ /μL	3,24	3,1	1,19	1,04	5,85
Mon	10 ³ /μL	0,51	0,5	0,17	0,2	0,9
Gran	10 ³ /μL	5,12	5,05	1,44	2,9	8,26
Plaquetas	10 ³ /μL	198,75	201	56,02	78,1	314,9

DE: Desviación estándar; VCM: Volumen corpuscular medio; HCM: Hemoglobina corpuscular medio; CHCM: Concentración de hemoglobina corpuscular medio.



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LOCALIZACIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en los distritos de Cajamarca (2,515 msnm) y San Juan (Huacraruco, 3,280 msnm), provincia y Región de Cajamarca; los análisis fueron realizados en el Laboratorio de la Clínica Veterinaria “Huellitas”. El trabajo se realizó durante los meses de mayo y junio del 2019, teniendo las condiciones meteorológicas siguientes¹:

Distrito de Cajamarca:

Altitud	2515 msnm
Latitud	7°9'54”
Longitud	78°28'42”
Temperatura promedio	14,15°C
Temperatura mínima	4,8°C
Temperatura máxima	23,5°C
Precipitación pluvial	646 mm (promedio anual)
Humedad relativa	70%
Presión atmosférica	560 mmHg
Evaporación	3,8 mm/d
Radiación solar	460 cal/cm ² /día

¹ SENAMHI – CAJAMARCA. Dirección de Redes de Observación y Datos “Estación: MASHCON, Tipo Convencional - Hidrológica” y “Estación: AUGUSTO WEBERBAUER, Tipo Convencional Meteorológica” (2018).

Distrito de San Juan – Huacraruco²

Altitud	3280 msnm
Latitud	7°18'29"
Longitud	78°24'0"
T° máxima	6 °C
Presión atmosférica	506 mmHg
T° mínima	-9 °C

² SENAMHI – CAJAMARCA. Dirección de Redes de Observación y Datos “Estación: SAN JUAN, Tipo Convencional - Hidrológica” (2018).

3.2. MATERIALES

3.2.1. Materiales biológicos

Los equinos que fueron muestreados pertenecen a la Caballería de la Policía Nacional del Perú – Cajamarca, la que cuenta con animales en dos lugares de crianza con distintas altitudes; una se encuentra ubicada en el distrito de Cajamarca a 2515 msnm y otra en el distrito de San Juan – Huacraruco a 3280 msnm.

La investigación se realizó en 20 equinos clínicamente sanos, de cada lugar de crianza, Cajamarca y San Juan, respectivamente.

Se determinó la condición de estar clínicamente sanos, observando las constantes fisiológicas y comparándolas con los parámetros establecidos para esta especie, como son: frecuencia cardiaca (28 – 40 lpm), frecuencia respiratoria (10 – 20 rpm), tiempo de llenado capilar (2–3 segundos), temperatura (37,5–38,5°C) y además fueron desparasitados 15 días antes de la toma de muestra.

Los animales que no cumplieron con las constantes fisiológicas dentro de los parámetros normales no fueron considerados dentro del estudio.

3.2.2. Materiales de laboratorio

Se usaron los siguientes:

- Agujas múltiple calibre N° 20 * 1“
- Tubos al vacío
- Alcohol a 96°
- Algodón
- Termómetro
- Estetoscopio

- Microscopio (Zeiss, M. Carl Zeiss® MicroImaging GmbH 37081 Göttingen, Germany, Serie – N°: 3116005719)
- Cámara de Neubauer (Improved Superior Marienfeld® Germany)
- Tubos Capilares
- Centrifuga (Fonem® Sao Paulo – Brasil Centrimicro® M: 211)
- Tubos de goma y boquilla de caucho
- Escala de lectura para microhematocrito
- Pipeta de dilución de Thoma
- Láminas porta objetos y cubre objetos

3.2.3. Reactivos

- Solución de Gower
- Solución Original de ácido acético al 1%
- Kit de tinción Hemacolor³:
 - Hemacolor® solution 1, solución fijadora (Alcohol metílico)
 - Hemacolor® solution 2, reactivo color rojo (Solución de eosina)
 - Hemacolor® solution 3, reactivo color azul (Solución de thiazine)
- Solución Buffer 7,2
- Agua destilada

³Laboratorios Merck, Hemacolor ® Rapid staining of blood smear staining set for microscopy.

3.3. METODOLOGÍA

3.3.1. Obtención de la muestra de sangre

- a) Para facilitar su manejo, se procedió a colocar a los equinos en la manga y en otros casos se procedió a realizar una sujeción física. Se dejó descansar y tranquilizarse a los animales por un tiempo de 30 minutos.
- b) Previo a la extracción de sangre se desinfectó la zona de la vena yugular con alcohol y se realizó presión digital para ingurgitar y visualizar la misma, inmediatamente, usando el sistema de extracción al vacío⁴ se extrajo 3 ml de sangre en tubos con anticoagulante EDTA, luego se agitó muy lento en forma de ocho el tubo con la sangre para que mezclara con el anticoagulante.
- c) Las muestras obtenidas fueron transportadas en caja de tecnockpor al Laboratorio de la clínica veterinaria “Huellitas”, para que finalmente sea analizado.

3.3.2. Del número de muestras

Se tomaron 40 muestras en total de equinos mayores a 2,5 años, sin tomar en cuenta el sexo y se dividió en dos grupos:

- 20 muestras de sangre con anticoagulante EDTA del centro poblado de Huacraruco – distrito de San Juan.
- 20 muestras de sangre con anticoagulante EDTA de la campiña del distrito de Cajamarca.

⁴ Vacutest® Vacutest Kima SRL Arzergrande – Italy.

3.3.3. Parámetros evaluados en el hemograma

En la serie roja y blanca se evaluó:

Variable	Unidad	Método
Recuento total de Eritrocitos	$10^6 / \mu\text{L}$	Hemocitométrico
Hemoglobina	g/dL	Cálculo matemático
Hematocrito	%	Microhematocrito
VCM	fL	Cálculo matemático
HCM	Pg	Cálculo matemático
CHCM	g/dL	Cálculo matemático
Recuento total de leucocitos	$10^3 / \mu\text{L}$	Hemocitométrico
Fórmula leucocitaria relativa	%	Frotis sanguíneo coloreado
Fórmula leucocitaria absoluta	$10^3 / \mu\text{L}$	Cálculo matemático

Para determinar los valores hematológicos de referencia se calculó los promedios con un límite de confianza de 95% (± 2 DE) (Oblitas, 2017).

3.4. Diseño estadístico

Los resultados también se sometieron a la prueba de T de Student, con el objeto de examinar las diferencias entre las muestras independientes obtenidas de Cajamarca y Huacraruco que tuvieron distribución normal y homogeneidad en sus varianzas.



CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. VALORES HEMATOLOGICOS DE REFERENCIAS

En la serie roja se determinó: Número de eritrocitos, hematocrito, hemoglobina, VCM, CHCM, HCM, promedio, desviación estándar en equinos clínicamente sanos.

Cuadro 7. Valores hematológicos de referencia ($\bar{x} \pm 2$ DE) para la serie roja en equinos clínicamente sanos de dos localidades, 2019.

Constantes hematológicas	Unid.	Localidades			
		Cajamarca n= 20		Huacraruco n= 20	
		$\bar{x} \pm$ DE	Valores de referencia ($\bar{x} \pm 2$ DE)	$\bar{x} \pm$ DE	Valores de referencia ($\bar{x} \pm 2$ DE)
N° Eritrocitos	10 ⁶ /μL	8,2±0,9	6,4-10,0	11,6±0,6	10,4-12,8
Hematocrito	%	39,4±2,8	33,8-45,0	47,1±5,4	36,3-57,9
Hemoglobina	g/dL	13,0±0,9	11,2-14,8	15,7±1,5	12,7-18,7
VCM	fL	48,3±5,0	43,3-53,3	40,5±4,1	32,3-48,7
CHCM	g/dL	32,9±0,6	31,7-34,1	33,4±0,8	31,8-35,0
HCM	Pg	15,9±1,6	14,3-17,5	13,5±1,1	11,3-15,7

DE: desviación estándar; VCM: volumen corpuscular medio; CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular medio; HCM: hemoglobina corpuscular medio; Unid: unidad; n: número de muestra.

Cuadro 8. Valores hematológicos de referencia ($\bar{x} \pm 2$ DE) para la serie blanca (fórmula leucocitaria relativa) encontrados en equinos clínicamente sanos de las dos localidades, 2019.

Constantes hematológicas	Unid.	Localidades			
		Cajamarca n= 20		Huacraruco n= 20	
		$\bar{x} \pm$ DE	Valores de referencia ($\bar{x} \pm 2$ DE)	$\bar{x} \pm$ DE	Valores de referencia ($\bar{x} \pm 2$ DE)
Leucocitos	$10^3/\mu\text{L}$	7,2 \pm 1,2	4,8-9,6	11.3 \pm 1,3	8,7-13,9
Neutrófilos segmentados	%	44,1 \pm 5,2	33,7-54,5	43,4 \pm 4,1	35,2-51,6
N. abastoadados	%	1,9 \pm 1,3	0,0-4,5	1,7 \pm 1,5	0,0-4,7
Eosinófilos	%	3,4 \pm 2,8	0,0-9,0	3,7 \pm 1,5	0,7-6,7
Basófilos	%	1,7 \pm 1,6	0,0-4,9	1,2 \pm 1,2	0,0-3,6
Linfocitos	%	43,7 \pm 6,0	31,7-55,7	36,5 \pm 5,1	26,3-46,7
Monocitos	%	5,5 \pm 3,0	0,0-1,5	13,6 \pm 5,3	3,0-24,2

Unid: unidades; n: número de muestra; \bar{x} : promedio; DE: desviación estándar.

Cuadro 9. Valores hematológicos de referencia ($\bar{x} \pm 2$ DE) para la serie blanca (fórmula leucocitaria absoluta) encontrados en equinos clínicamente sanos de las dos localidades, 2019.

Constantes hematológicas	Unid.	Localidades			
		Cajamarca n= 20		Huacraruco n= 20	
		$\bar{x} \pm$ DE	Valores de referencia ($\bar{x} \pm 2$ DE)	$\bar{x} \pm$ DE	Valores de referencia ($\bar{x} \pm 2$ DE)
N. segmentados.	$10^3/\mu\text{L}$	$3,2 \pm 0,7$	1,8-4,6	$4,9 \pm 0,8$	3,3-6,5
N. abastionados	$10^3/\mu\text{L}$	$0,1 \pm 0,1$	0,0-0,3	$0,2 \pm 0,2$	0,0-0,6
Eosinofilos.	$10^3/\mu\text{L}$	$0,2 \pm 0,2$	0,0-0,6	$0,4 \pm 0,2$	0,0-0,8
Basofilos.	$10^3/\mu\text{L}$	$0,1 \pm 0,1$	0,0-0,3	$0,1 \pm 0,1$	0,0-0,3
Linfocitos	$10^3/\mu\text{L}$	$3,1 \pm 0,7$	1,7-4,5	$4,1 \pm 0,6$	2,9-5,3
Monocitos.	$10^3/\mu\text{L}$	$0,4 \pm 0,2$	0,0 – 0,8	$1,5 \pm 0,6$	0,3 – 2,7

Cuadro 10. Comparación de los valores hematológicos de la serie roja en equinos clínicamente sanos de las dos localidades, 2019.

Constantes hematológicas	Unid.	Localidades	
		\bar{x} de Cajamarca n= 20	\bar{x} de Huacraruco n= 20
N° Eritrocitos	$10^6/\mu\text{L}$	8,1a	11,6b
Hematocrito	%	39,4a	47,1b
Hemoglobina	g/dL	13,0a	15,7b
VCM	fL	48,3a	40,5b
CHCM	g/dl	32,9a	33,4a
HCM	pg	15,9a	13,5a

Letras iguales en la misma fila indican que no hay diferencia significativa ($p > 0,05$).

DE: desviación estándar; VCM: volumen corpuscular medio; CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular medio; HCM: hemoglobina corpuscular medio; Unid: unidades; n: número de muestra; \bar{x} : promedio.

Cuadro 11. Comparación de los Valores hematológicos de la fórmula leucocitaria relativa encontrados en equinos clínicamente sanos de las dos localidades, 2019.

Constantes Hematológicas	Unid.	Localidades	
		\bar{x} Cajamarca n= 20	\bar{x} Huacraruco n= 20
Leucocitos	$10^3/\mu\text{L}$	7,2a	11,3b
N. Segmentados	%	44,1a	43,4b
N. Abastionados	%	1,9a	1,7a
Eosinófilos	%	3,4a	3,7a
Basófilos	%	1,7a	1,2a
Linfocitos	%	43,7a	36,5b
Monocitos	%	5,5a	13,6b

Letras iguales en la misma fila indican que no hay diferencia significativa ($p>0.01$).

Unid: unidad; n: números de muestras; \bar{x} : promedio.

Cuadro 12. Comparación de los Valores hematológicos de la fórmula leucocitaria absoluta encontrados en equinos aparentemente sanos de las dos localidades, 2019.

Constantes Hematológicas	Unid.	Localidades	
		\bar{x} Cajamarca n= 20	\bar{x} Huacraruco n= 20
N. segmentados	$10^3/\mu\text{L}$	3,2a	4,9b
N. abastionados	$10^3/\mu\text{L}$	0,1a	0,2 ^a
Eosinófilos	$10^3/\mu\text{L}$	0,2a	0,4 ^a
Basófilos	$10^3/\mu\text{L}$	0,1a	0,1 ^a
Linfocitos	$10^3/\mu\text{L}$	3,1a	4,1b
Monocitos	$10^3/\mu\text{L}$	0,4a	1,5 b

Letras iguales en la misma fila indican que no hay diferencia significativa ($p>0.01$).

Unid: unidad; N°: números de muestras; \bar{x} : promedio.



CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

5.1. Serie roja

El número de eritrocitos ($11,6 \times 10^6/\mu\text{L}$), hemoglobina (15,7 g/dL) y hematocrito (47,1%), obtenidos en Huacraruco (3280 msnm) con una diferencia significativa ($p < 0.05$) obtenido en la Campiña de Cajamarca (2515 msnm) teniendo los siguientes resultados: Eritrocitos ($8,2 \times 10^6/\mu\text{L}$), hemoglobina (13,0 g/dL) y hematocrito (39,4%); y también hay una diferencia considerable con otros trabajos a diferentes altitudes, como lo reporta (Díaz, 2011) lo hizo en el Valle de Lurín, Lima (ver Cuadro 4); (Barrantes, 1978) y (Coba, 2004) trabajaron en Cajamarca y el distrito de La Encañada a altitudes de 2536, y 3098 msnm, respectivamente (ver Cuadros 1 y 3); (Luna, 2018) hizo un trabajo en la región litoral de Ecuador (provincias de Santo Domingo de los Tsáchilas, Manabí, Los Ríos y Esmeraldas) a una altitud de 0 a 500 msnm (ver Cuadro 6); todos obtuvieron valores referenciales para estos animales por debajo de los obtenidos en el caserío de Huacraruco, distrito de San Juan, provincia y región de Cajamarca.

Esta situación se debería a la baja presión atmosférica que se da en Huacraruco que es aproximadamente 506 mmHg mientras que en la campiña de Cajamarca es de 560mmHg y al nivel del mar es de 760 mmHg; por la consecuencia de la baja presión atmosférica también baja la Presión Parcial de Oxígeno. Esta menor Presión Parcial de Oxígeno ocasionaría diversos procesos y cambios homeostáticos,

principalmente en los sistemas cardiovascular, respiratorio y hematológico. Los mecanismos para la adaptación a una mayor altura son: aumento de la frecuencia respiratoria, aumento de la ventilación pulmonar, aumento de la capacidad de difusión pulmonar, aumento de la vascularización de los tejidos periféricos, aumento en el número de eritrocitos y aumento de la capacidad de las células tisulares para utilizar el oxígeno disponible a pesar de la baja presión de oxígeno (González, 2001; Cárdenas, 2003; Guyton y Hall, 2016).

El Volumen Corpuscular Media (VCM), obtenido en el centro poblado de Huacraruco-San Juan con un promedio de 40,5fL marca una diferencia significativa ($p < 0,05$) con lo obtenido en la campaña de Cajamarca con un promedio de 48,3 fl, observándose que el volumen de los eritrocitos de la localidad de Huacraruco son más pequeños que los de Cajamarca, situación que indicaría que a mayor altitud menor es el tamaño de eritrocito, tal como lo sostiene, en el caso de humanos, que el menor tamaño del eritrocito se da por el cambio de altitud (Castillo, 2014).

La Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM), obtenido en el centro poblado de Huacraruco - San Juan con un \bar{x} 33,4 g/dl, no presenta diferencia significativa ($p > 0,05$) con los caballos estudiados en la campaña de Cajamarca con un \bar{x} 32,89 g/dl. La Hemoglobina corpuscular Media (HCM), obtenido en el centro poblado de Huacraruco - San Juan con un \bar{x} 13,5 g/dl no hay diferencia significativa ($p > 0,05$) obtenida en la campaña de Cajamarca con un \bar{x} 15,9 g/dl.

5.2. Serie blanca

En la serie blanca se encontró que había diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los resultados obtenidos en las dos localidades (Huacraruco y Cajamarca), para el número de leucocitos totales siendo mayor para Huacraruco; así como, hay diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los neutrófilos segmentados, linfocitos y monocitos, esta situación se debería no por consecuencia de los diferentes pisos altitudinales, sino a los diferentes estímulos fisiológicos, patológicos, esfuerzo físico, entre otros (Navia *et al.*, 2004; Monroy, 2009).



CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

- 6.1. Bajo las condiciones de este estudio, se estableció los valores hematológicos de referencia en equinos (*Equus ferus caballus*) de trabajo, a dos altitudes en la Provincia de Cajamarca, campiña de Cajamarca (2515 msnm): Eritrocitos $6,4 - 10,0 \times 10^6/\mu\text{L}$; hematocrito. $33,8 - 45,0\%$; Hb $11,2 - 14,8 \text{ g/dL}$; VCM $43,3 - 53,3 \text{ fL}$; CHCM $31,7 - 34,1\text{g/dL}$; HCM $14,3-17,15 \text{ pg}$; leucocitos $4,8- 9,6 \times 10^3/\mu\text{L}$; Neutrófilos Segmentados $33,7-54,5\%$; Neutrófilos abastionados $0-4,5\%$; eosinófilos $0-9\%$; basófilos $0- 4,9\%$; linfocitos $31,7 - 55,7\%$; monocitos $0-1,5\%$. En Huacraruco (3280 msnm), distrito de San Juan: Eritrocitos $10,4-12,8 \times 10^6/\mu\text{L}$; hematocrito. $36,3-57,9\%$; Hb $12,7-18,7 \text{ g/dL}$; VCM $32,3-48,7\text{fL}$; CHCM $31,8-35,0 \text{ g/dL}$; HCM $11,3-15,7 \text{ pg}$; leucocitos $8,7 -13,9 \times 10^3/\mu\text{L}$; neutrófilos. segmentados $35,2-51,6\%$; neutrófilos abastionados $0-4,7\%$; eosinófilos $0,7-6,7\%$ basófilos $0- 3,6\%$; linfocitos $26,3-46,7\%$; monocitos $3,3-24,2\%$.
- 6.2. Los valores hematológicos de referencia determinados en Huacraruco, distrito de San Juan, provincia y región de Cajamarca son mayores en la serie roja en comparación con los obtenidos en la campiña de Cajamarca.
- 6.3. Los valores hematológicos de referencia determinados en Huacraruco, distrito de San Juan, provincia y región de Cajamarca son mayores para los leucocitos y monocitos y menores en neutrófilos segmentados, linfocitos en comparación con los obtenidos en la campiña de Cajamarca.



CAPÍTULO VII

RECOMENDACIONES

- 7.1. Para el caso de equinos de trabajo adaptados a zonas de altura se recomienda hacer estudios en las constantes bioquímicas séricas, determinar plaquetas, entre otros, pues son animales que son poco estudiados.



CAPÍTULO VII

REFERENCIAS

- Benjamín, M. (1990). Manual de Patología clínica en Veterinaria. México. D.F., Limusa.
- Brandan, M., Aguirre, M., Giménez, C. (2008). UNNE. Argentina. Hemoglobina. [Recuperado marzo 2019]. Disponible en: https://docs.moodle.org/all/es/images_es/5/5b/Hemoglobina.pdf
- Barrantes, R. (1978). "Valores hematológicos normales de caballo de paso peruano criado en el valle de Cajamarca". Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario. UNC.
- Barrios, M., Ramírez, P., Fernández, N., Pita, G. (2010). ¿Se cumple siempre la relación hemoglobina-hematocrito? Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia.
- Barranco, F., Blasco, A., Mérida, M., Muñoz, A., Jareño, J., Cozar, R., Guerrero, J., Gil, C., Martín Y., Rodríguez, J. (2002). "Principios de urgencias, emergencias y cuidados críticos. SAMIUC [Versión de Uninet]. Andalucía."
- Cárdenas, G. (2003). "Coordinador Médico SAME." Napay Sunqu. Revist. Pediat.

- Carr, J., Rodak, B. (2010). Atlas de Hematología clínica. Argentina. Editorial Medica Panamericana.
- Castillo, T. (2013). Cambios hematológicos en relación con la altura, en los miembros del club de andinismo, “Los halcones” de la ciudad de Riobamba en el período julio a noviembre.
- Coba, H. (2004). Constantes hematológicas en equinos (*Equus caballus*) criados en condiciones de altura (Encañada - Cajamarca). Para optar el título de Médico Veterinario. FCV. UNC.
- Dellman, H., Brown, E. (1980). Histología veterinaria. Editorial Acribia. Zaragoza – España.
- Díaz, H., Gavidia, C., Li, O., Tío A. (2011). Valores hematológicos, bilirrubinemia y actividad enzimática sérica en caballos peruanos de paso del valle de Lurín, Lima. Rev. Invetig. Vet. Perú – Lima.
- Guyton, A., Hall, J. (2016). Tratado de fisiología médica. 5ed. México: Interamericana, 1976. 1159 p.
- González, G. (2001). “Metabolismo en las grandes alturas.” Acta andina. 9 (1/2): 31 – 45.
- Latimer, K.S., Mahaffey, E.A., Prasse, K.W. (2003). Veterinary Laboratory Medicine: Clinical pathology. Iowa: Blackell.
- Luna, D., Hernández, K., Chacha, S., y Cedeño, Y. (2018). Determinación de los valores de referencia en el hemograma de caballos nacidos o criados entre 0 y 500 msnm en la región Litoral del Ecuador. Artículo científico. Ecuador – Litoral.

- Montalvo, E. (2018). Biología celular e histología médica (tejido sanguíneo y hematopoyesis). Facultad de Medicina, Departamento de Biología Celular. México. Universidad Nacional Autónoma de México. Pdf.
- Monroy, A. (2009). “Los Glóbulos Blancos en la Altura”. Medicina y Altitud: Consejos y experiencias médicas.
- Navia, M., Pereira, C., Freddy, C., Rios, C. y Odi, Y. (2004). Fórmula Leucocitaria y Plaquetas en la Eritrocitosis de Altura, Comunicación Preliminar. Cuaderno del Hospital de Clínicas 49(1):63–68. Online: <https://goo.gl/eFGhCo>.
- Núñez, O.L., Bouda, J. (2007). Patología Clínica Veterinaria. (primera Edición) México: UNAM. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Departamento de Patología.
- Oblitas, F. (2017). La patología clínica en las enfermedades de los animales domésticos. UNC.
- Opencourseware. (2011). Fisiología humana. Glóbulos rojos, eritrocitos hematíes. Universidad de Cantabria, España. [15 enero 2019]. Disponible en: <https://ocw.unican.es/mod/page/view.php?id=545>
- Rebar, A.H., MacWilliams, P.S., Metzger, L.F., Pollock, R.V., Roche, J. (2002). Manual de hematología de perros y gatos. España. Multimedia.
- Sánchez, C. (2006). Crianza y Manejo de Caballos.
- Salazar, J. (1958). Algunos valores hematológicos en equinos de altura. Tesis Bach. M.V. FCV. UNMSM. Lima-Perú.

Suárez, E. (2001). "Introducción, fisiología respiratoria, cardiovascular." Fisiología del Habitante de Altura.

Quispe, U., Nano, F. (2007). "Eritrocitosis de altura patológico." Revista Científica.

Vives, L. (1951). Algunos estudios hematológicos en el caballo en relación a la edad. Tesis Bach. UNMSM-Lima. Perú.

Willan, J., Reagan, G., Sanders, B. (2016). Hematología Veterinaria. Atlas de especies domésticas comunes, España [recuperado enero 2019]. Disponible en: <https://docplayer.es/13272039-Hematologia-veterinaria.html>

Wittwer, M., Bohmwald, L. (1987). Manual de Patología clínica Veterinaria. Valdivia – Chile.

ANEXO 1

REGISTROS DE EQUINOS

Fecha de muestreo: _____ N° _____

Datos del propietario:

Nombre:

Dirección:

Teléfono:

Datos del equino:

Nombre:

Sexo:

Edad:

Condición corporal:

Raza:

Datos clínicos:

T°:.....FR:.....FC:.....

Tiempo de llenado capilar.....

Tipo de examen:

Hemograma

ANEXO 2

✦ MÉTODO PARA HEMOGRAMA

Los parámetros Hematológicos que se tomaron fueron los siguientes:

1. Recuento de glóbulos rojos: Método Hematocitómetro.

Benjamín (1990), describe el siguiente procedimiento:

Método: Método del Hemocitómetro.

Muestra: Sangre con anticoagulante.

Reactivos:

- Solución de Gower a base de:
 - Sulfato de sodio 15,63 g
 - Ácido acético 41,65 ml
 - Agua destilada 250 ml

Material: Pipeta de Thoma, tubo de goma, cámara de Neubauer, gradillas portatubos.

Técnica:

- a. Colocar el tubo de goma a la pipeta cuenta glóbulos de Thoma, la que se identifica con la marca 101 por encima del bulbo.
- b. Homogenizar la muestra de sangre, aspirar suavemente las muestras de sangre hasta la marca 0,5 de la pipeta. Limpiar las paredes exteriores con papel absorbente.
- c. Aspirar el diluyente (Solución de Gower), hasta la marca 101. Poner la pipeta en forma horizontal y tapar la punta con el dedo antes de retirar la pieza de caucho. Agitar por lo menos 2 a 3 minutos con un simple movimiento en ocho.
- d. Descartar las 3 a 4 primeras gotas, limpiar el área graduada de la cámara de Neubauer. Llenar el espacio comprendido entre la cámara y el cubreobjetos anteriormente colocado.

- e. Observar al microscopio con el objetivo de 40X, se cuentan todos los eritrocitos de 5 de 25 cuadrados del área central.

Cálculo:

- Y así se puede efectuar la suma de las células en los 5 cuadrados pequeños $\times 10,000 =$ eritrocitos/ μ l.

2. Recuento de glóbulos blancos: Método Hematocitómetro.

Benjamín (1990), describe el siguiente procedimiento:

Método: Método del Hemocitómetro

Muestra: Sangre con anticoagulante.

Reactivos:

- Diluyente original, elaborado con:
 - Ácido acético glacial 1 ml
 - Solución alcohólica de violeta de genciana: 2,5 ml
 - Agua destilada 100 ml

Material: Pipeta de Thoma, pieza de caucho, cámara de Neubauer, gradilla porta tubos.

Técnica:

- a. Colocar la pieza de caucho a la pipeta cuenta glóbulos de Thoma, la que a diferencia de la utilizada para recuento de eritrocitos se identifica con la marca 11 por encima del bulbo.
- b. Homogenizar la sangre y llenar la pipeta hasta la marca 0,5 con ésta, luego secar la parte externa y aspirar uniformemente el diluyente original hasta la marca 11, esto proporciona una dilución de 1:20.
- c. Agitar por unos 3 minutos para que se mezcle bien. Se descarta de 2 a 3 gotas de la pipeta antes de llenar la cámara contadora. Se deja por lo menos 1 minuto para que los eritrocitos se lisen y que los leucocitos se sedimenten.

- d. Con el objeto de poco aumento (10X), se cuentan las células de cada uno de los 4 cuadrados grandes de las esquinas.
- e. El conteo se realiza de izquierda a derecha, se debe tener cuidado de no contar dos veces la misma célula, pues al final se reflejará con una diferencia enorme de lo que tiene en realidad el animal.
- f. Se requiere contar las células que estén sobre la línea izquierda y la línea superior para incluirlas, o por el contrario, se cuentan las células que se encuentran sobre la línea derecha o la inferior del cuadro, no se incluyen en la cuenta.
- g. Ya que se tiene la cuenta final (en la cual no debe haber una diferencia superior de 25 % entre cada cuadro de las esquinas).

Cálculo:

$$\frac{\text{Células contadas} \times 20 \text{ (dilución 1: 20)} \times 10 \text{ (profundidad 0.1 mm)}}{4 \text{ (número de mm}^2\text{ contados)}} \\ = \text{Leucocitos}/\mu\text{l}$$

Así, se obtiene la suma de las células de las cuatro esquinas de los cuatro cuadrados $\times 50 = \text{leucocitos}/\mu\text{l}$.

3. Determinación del Hematocrito

Procedimiento para hematocrito

- a) Al tomar la muestra en capilares con heparina para sangre venosa con anticoagulante EDTA. Debe llenarse aproximadamente 70-80% del capilar, sin dejar burbujas de aire.
- b) Ocluir (tapar) el extremo del capilar que estuvo en contacto con la sangre, con plastilina.

- c) Colocar el capilar sobre la plataforma del cabezal de la microcentrífuga, con el extremo ocluido adherido al reborde externo de la plataforma.
- d) Centrifugar por 5 min a 15 000 rpm
- e) Para leer el resultado, se lleva a cabo una regla de tres, midiendo el volumen total de plasma y eritrocitos o por medio de la regleta.
- f) Para la regleta, se sostiene el tubo frente a la escala de manera que el fondo de la columna de eritrocitos, quede exactamente al mismo nivel de la línea horizontal correspondiente al cero.
- g) Desplazar el tubo a través de la escala hasta que la línea marcada con el 1,0 quede al nivel del tope del plasma. El tubo debe de encontrarse completamente en posición vertical.
- h) La línea que pase al nivel del tope de la columna de eritrocitos indicara la fracción del volumen de estos.

4. Determinación de la Hemoglobina

La Hb, componente principal de los eritrocitos, representa el 32 % de la masa total del glóbulo rojo y es el mejor índice para medir la capacidad de transporte de gases de la sangre. La determinación de Hb mide la cantidad de la proteína que hay en un volumen de sangre y generalmente se expresa en g/L o g/dL.

Usualmente se considera que estas variables se correlacionan bien y que ambas se encuentran disminuidas en la anemia. La relación Hb-Hto consiste en calcular el valor de la Hb al dividir el Hto entre un factor usualmente entre 3,0 y 3,3. Y la relación inversa de obtener el Hto a partir de multiplicar la concentración de Hb por este factor.

La creencia de que el valor del hematócrito es equivalente a 3 veces la concentración de hemoglobina, es una proporción matemática que

solo se cumple en los individuos "normales", con valores "normales" de Hb y Hto, y eritrocitos "normocíticos normocrómicos". De manera que en pacientes con anemia esta relación puede dejar de cumplirse. Por lo tanto, su uso como rutina en el laboratorio clínico no es aconsejable (Barrios *et al.*, 2010).

5. Recuento leucocitario diferencial

Método: Kit de tinción Hemacolor®.

❖ **Preparación del frotis:** Carr y Rodak (2010).

- a) Se coloca una gota de sangre con EDTA de aproximadamente 3 mm en un extremo de la lámina portaobjetos de 75 x 25 mm que será para el soporte del extendido y con otra lámina de bordes y esquinas biselados (extensor), la lámina extensora se coloca por delante de la gota de sangre ángulo de 35–45° con respecto a la lámina porta, el extensor se desliza hacia atrás hasta tener contacto con la gota y se la sostiene hasta que la sangre cubra todo el ancho del portaobjetos. A continuación, el extensor se desliza con rapidez y suavidad hacia el otro extremo del portaobjetos que sirve de soporte para el extendido, con lo que se crea extendido en forma de cuña.
- b) El secado debe ser lo más rápido posible, utilizando para esto agitaciones rápidas en el aire.

❖ **Tinción Hemacolor®**

Fundamento: Esta preparación de tinción policromática, donde el azul de metileno libre es básico, tiñendo los grupos ácidos de color azul con el RNA, modificándose a color púrpura que tiñe los gránulos de los basófilos y el ADN nuclear; la eosina es el componente ácido y tiñe de rojo los grupos básicos, se tiñen de rojo a anaranjado en el

caso de proteínas, hemoglobina y gránulos de eosinófilos (Carr, Rodak, 2010).

- a) El frotis seco, se sumerge en la solución fijadora 6 veces con un intervalo dentro de la solución de un segundo.
- b) Luego se sumerge 3 veces por un segundo cada uno en la solución de eosina.
- c) Se retira el excedente con papel absorbente, y se sumerge en la tinción de azul de metileno por 3 veces con un segundo de tiempo.
- d) Finalmente se enjuaga con una solución Buffer de un pH de 7,2 para eliminar el excedente de la tinción y finalmente el secado a medio ambiente.

Observación

Se realizó la observación de acuerdo a los pasos que describen Carr y Rodak (2010), de la siguiente manera:

- a) El frotis sanguíneo comienza su análisis con un barrido del portaobjetos con el objetivo de 10X, que determinaría la calidad general del frotis, incluida la distribución de los eritrocitos que sugiere la presencia de *rouleaux* o la de un número desproporcionado de grandes células nucleadas en los bordes del extendido.
- b) Luego se emplea el objetivo 40X, con el que se busca los eritrocitos que se encuentren uniformemente distribuidos y en donde apenas se toquen unos con otros.
- c) El paso siguiente es la evaluación del frotis con el objetivo de 100X, el cual es realizar el estimado del recuento de leucocitos, pero utilizando el objetivo de inmersión en aceite 100X.
- d) Cuando se analiza el área correcta de un frotis de un paciente con el recuento normal de eritrocitos, se observan alrededor de 200 a 250 eritrocitos por campo de 100X. Po lo general, el recuento

diferencial incluye el conteo y la clasificación de 100 leucocitos consecutivos y el informe de estas clases como porcentajes. El recuento diferencial se realiza de modo sistemático; para ello se utiliza un recorrido en patrón de guarda griega, que minimiza los errores de distribución de los leucocitos. Los resultados se informan como porcentajes de cada tipo de leucocito observado durante el recuento.

6. Determinación de Índices Hematimétricos

Manifiesta que los índices eritrocíticos definen el tamaño y el contenido de hemoglobina del eritrocito de valores obtenidos por la cuenta eritrocítica, la concentración de hemoglobina y el hematocrito; estos índices son obtenidos mediante cálculos matemáticos Benjamín (1990), y son los siguientes:

Volumen corpuscular media (VCM): Expresa el volumen promedio del eritrocito individual, es una forma de calcular el tamaño del eritrocito, y se calcula con la siguiente fórmula:

$$VCM = \frac{\text{Hematocrito}}{\text{N}^\circ \text{eritrocitos}} \times 10$$

El resultado expresa el volumen medio del eritrocito en fentolitros (fl).

Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM)

Es la concentración de hemoglobina en el eritrocito promedio o la proporción del peso de la hemoglobina y el volumen en el cual está contenido; se calcula con la siguiente fórmula:

$$(\text{CHCM}): HCM = \frac{\text{Hemoglobina}}{\text{Hematocrito}} \times 100$$



El resultado se expresa en gramos por decilitro (g/dl) (Benjamín, 1990).

Hemoglobina Corpuscular Medio (HCM)

Es una medida de la masa de la hemoglobina contenida en un glóbulo rojo y se expresa en picogramos (pg). Se usa la siguiente fórmula (Benjamín, 1990).

$$\text{HCM} = \frac{\text{Hemoglobina}}{\text{N}^\circ \text{eritrocitos}} \times 10$$

ANEXO 3 PANEL FOTOGRÁFICO



Fig. 1. Secando los frotis.

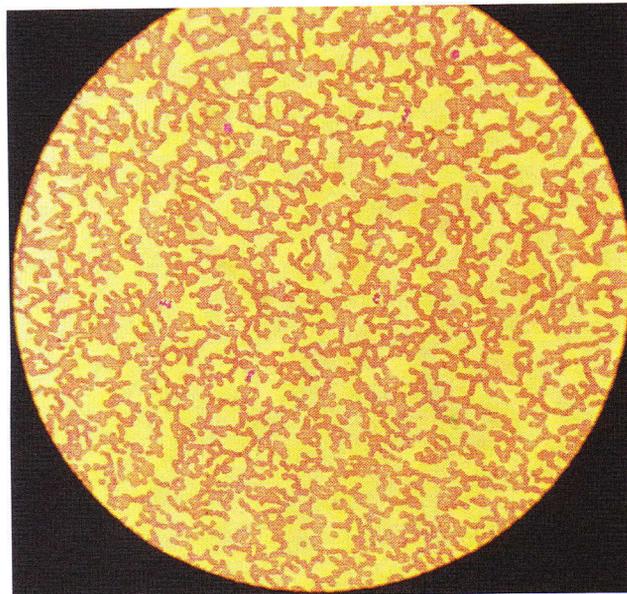


Fig. 2. Observación a 40X, donde se puede observar los glóbulos blancos y los eritrocitos en forma de pila (roulex).

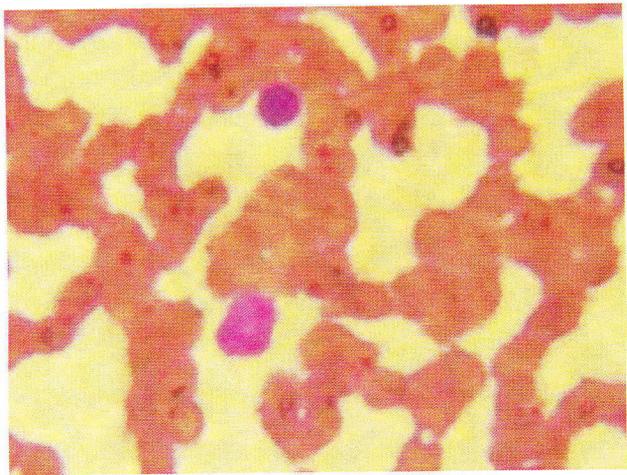


Fig. 3. Observación a 100X, donde se puede observar un linfocito y un monocito.

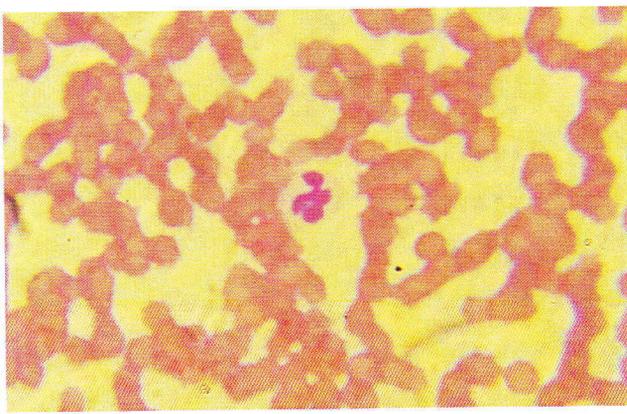


Fig. 4. Observación a 100X, donde se ve un neutrófilo segmentado.

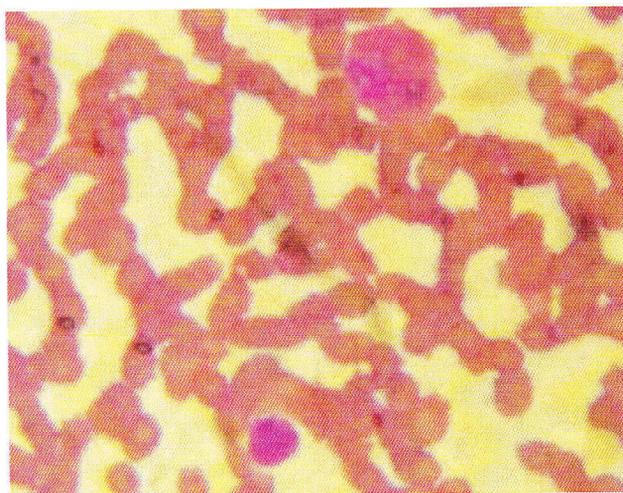


Fig. 5. Observación a 100X, donde se observa un eosinófilo y un linfocito.

ANEXO 4

Estudio estadístico

Valores Hematológicos de Referencia en equinos procedentes de Cajamarca

		Descriptive Statistics Cajamarca						
		N°	Rango	Mínimo	Máximo	Mean	Std. Deviation	CV%
SERIE ROJA	Eritrocitosx10 ⁶	20	6,10	4,20	10,30	8,10	1,22	15,09
	Hto(%)	20	10,80	33,30	44,10	39,40	2,81	7,12
	Hb(Gr/dl)	20	3,60	10,90	14,50	12,96	0,89	6,88
	VCM(fL)	20	58,80	40,20	99,00	50,23	12,17	24,24
	CHCM(g/dl)	20	2,40	31,50	33,0	32,89	0,62	1,87
	HCM (g/dl)	20	18,90	13,20	32,10	16,52	3,90	23,64
FÓMULA LEUCOCITARIA RELATIVA (%)	Leucocitosx10 ³	20	4,90	5,50	10,40	7,63	1,50	19,68
	Segmentados	20	29,00	29,00	58,00	44,30	7,93	17,90
	Abastondados	20	2,00	0,00	2,00	0,60	0,82	136,80
	Eosinófilos	20	9,00	0,00	9,00	2,20	2,59	117,61
	Basófilos	20	7,00	0,00	7,00	1,00	1,81	180,64
	Linfocitos	20	32,00	33,00	65,00	46,40	9,12	19,65
	Monocitos	20	12,00	1,00	13,00	5,50	3,20	58,25
FÓMULA LEUCOCITARIA ABSOLUTA	Segmentados	20	3,00	2,30	5,30	3,37	0,91	27,10
	Abastondados	20	0,20	0,00	0,20	0,05	0,07	137,65
	Eosinófilos	20	0,60	0,00	0,60	0,17	0,18	109,96
	Basófilos	20	0,40	0,00	0,40	0,08	0,12	161,14
	linfocitos	20	4,70	2,00	6,70	3,55	1,12	31,48
	Monocitos	20	0,90	0,10	1,00	0,41	0,24	58,63

Valores Hematológicos de Referencia en equinos procedentes de Huacraruco

Descriptive Statistics Huacraruco								
		N°	Rango	Mínimo	Máximo	Mean	Std. Deviation	CV%
SERIE ROJA	Eritrocitosx106	20	2,00	10,50	12,50	11,63	0,56	4,78
	Hto(%)	20	23,70	37,20	60,90	47,09	5,35	11,37
	Hb(Gr/dl)	20	6,60	12,80	19,40	15,68	1,51	9,64
	VCM(fL)	20	16,50	35,10	51,60	40,47	4,09	10,11
	CHCM(g/dl)	20	3,50	30,90	34,40	33,35	0,81	2,43
	HCM (g/dl)	20	3,90	12,10	16,00	13,49	1,13	8,37
FÓRMULA LEUCOCITARIA RELATIVA (%)	Leucocitosx10 ³	20	4,40	9,00	13,40	11,31	1,26	11,15
	Segmentados	20	23,00	35,00	58,00	44,25	5,29	11,96
	Abastionados	20	6,00	0,00	6,00	1,65	1,53	92,80
	Eosinófilos	20	6,00	1,00	7,00	3,80	1,64	43,20
	Basófilos	20	1,00	0,00	1,00	0,15	0,37	24,23
	Linfocitos	20	23,00	26,00	49,00	36,45	5,74	15,76
	Monocitos	19	17,50	5,50	23,00	13,66	5,36	39,28
FÓRMULA LEUCOCITARIA ABSOLUTA	N segmentados	20	2,90	3,80	6,70	5,02	0,91	18,18
	N Abastionados	20	0,70	0,00	0,70	0,19	0,18	99,63
	Eosinofilos	20	0,70	0,10	0,80	0,42	0,17	40,83
	Basófilos	20	0,10	0,00	0,10	0,02	0,04	244,23
	linfocitos	20	2,80	2,50	5,30	4,13	0,69	16,74
	Monocitos	20	1,90	0,50	2,40	1,52	0,60	39,68

Referente a la Serie Roja

I. HIPÓTESIS

Ho: Los valores Hematológicos de Referencia en la serie roja Equinos (*Equus Caballus*) de trabajo, a dos Altitudes en la Provincia de Cajamarca; son similares entre sí.

Ha: Los valores Hematológicos de Referencia en Equinos (*Equus Caballus*) de trabajo, a dos Altitudes en la Provincia de Cajamarca; son diferentes entre sí.

Valores hematológicos entre localidades en lo referente a serie roja

Variable	N°	N°	Media Cajamarca	Media Huacraruco	Valor de T	P Valor
Eritrocitosx106	20	20	8,10	11,63	-11,75	0,00
Hto(%)	20	20	39,40	47,09	-5,9	0,00
Hb(Gr/dl)	20	20	12,96	15,68	-6,94	0,00
VCM(fL)	20	20	50,23	40,47	3,40	0,00
CHCM(g/dl)	20	20	32,88	33,35	-2,04	0,05
HCM (g/dl)	20	20	16,52	13,49	3,33	0,00

Acepto la hipótesis alternativa en las variables de la serie roja; donde los Eritrocitos, Hto, Hb, VCM, CHCM y HCM son diferentes entre los promedios de las localidades de Cajamarca y Huacraruco.

Referente a la fórmula leucocitaria relativa

I. HIPÓTESIS

Ho: Los valores Hematológicos de Referencia en la fórmula leucocitaria relativa en Equinos (*Equus Caballus*) de trabajo, a dos Altitudes en la Provincia de Cajamarca; son similares entre sí.

Ho: Los valores Hematológicos de Referencia en la fórmula leucocitaria relativa en Equinos (*Equus Caballus*) de trabajo, a dos Altitudes en la Provincia de Cajamarca; son; son diferentes entre sí.

Valores hematológicos entre localidades en lo referente a la fórmula leucocitaria relativa

Variable	N°	N°	Media Cajamarca	Media Huacraruco	Valor de T	P Valor
Leucocitosx103	20	20	7,63	11,31	-8,38	0,00
N. Segmentados	20	20	44,30	44,25	0,02	0,98
N. Abastionados	20	20	0,60	1,65	-2,70	0,01
Eosinófilos	20	20	2,20	3,80	-2,34	0,02
Basófilos	20	20	1,00	0,15	2,06	0,05
Linfocitos	20	20	46,40	36,45	4,13	0,00
Monocitos	20	20	5,50	13,57	-5,88	0,00

Acepto la hipótesis alternativa en las variables de leucocitos ($p < 0,01$), abastionados ($P < 0,01$), Eosinófilos ($P < 0,00$), Basófilos ($P < 0,05$), Linfocitos ($P < 0,01$) y Monocitos ($P < 0,01$) y se concluye que no son iguales los valores hematológicos en la fórmula leucocitaria absoluta entre ambas localidades. En los valores de N Segmentados son iguales.

Referente a la fórmula leucocitaria absoluta

I. HIPÓTESIS

Ho: Los valores Hematológicos de Referencia en la fórmula leucocitaria absoluta en Equinos (*Equus Caballus*) de trabajo, a dos Altitudes en la Provincia de Cajamarca; son similares entre sí.

Ha: Los valores Hematológicos de Referencia en la fórmula leucocitaria absoluta en Equinos (*Equus Caballus*) de trabajo, a dos Altitudes en la Provincia de Cajamarca; son; son diferentes entre sí.

Valores hematológicos entre localidades en lo referente a la fórmula leucocitaria absoluta

Variable	N°	N°	Media Cajamarca	Huacraruco	Valor de T	P Valor
N. Segmentados	20	20	3,37	5,01	-5,72	0,00
N. Abastionados	20	20	0,05	0,19	-3,07	0,01
Eosinófilos	20	20	0,17	0,42	-4,50	0,00
Basófilos	20	20	0,08	0,02	2,12	0,05
Linfocitos	20	20	3,55	4,13	-1,96	0,06
Monocitos	20	20	0,41	1,52	-7,65	0,00

Acepto la hipótesis alternativa en las variables de N Segmentados ($P < 0,01$), abastionados ($P < 0,01$), Eosinófilos ($P < 0,00$), Basófilos ($P < 0,05$) y Monocitos ($P < 0,01$) y se concluye que no son iguales los valores hematológicos en la fórmula leucocitaria absoluta entre ambas localidades. En los valores de linfocitos son iguales.