

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS



Clasificación de las principales anemias en caninos

Por:

FIDEL ALBERTO HERNÁNDEZ RAMÍREZ

MONOGRAFÍA

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México

Diciembre 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Clasificación de las principales anemias en caninos

Por:

FIDEL ALBERTO HERNÁNDEZ RAMÍREZ

MONOGRAFÍA

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial
para obtener el título de:

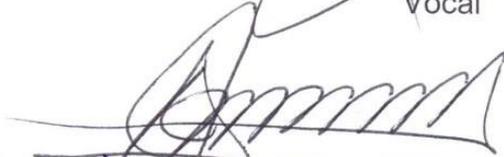
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por:


MSP. JOSÉ LUIS FCO SANDOVAL ELÍAS
Presidente


MVZ. RODRIGO SIMÓN ALONSO
Vocal


MVZ. DIANA E. SALAZAR NEVAREZ
Vocal


MVZ. JESUS ALONSO AMAYA GONZALES
Vocal Substituto


MVZ. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Diciembre 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Clasificación de las principales anemias en caninos

Por:

FIDEL ALBERTO HERNÁNDEZ RAMÍREZ

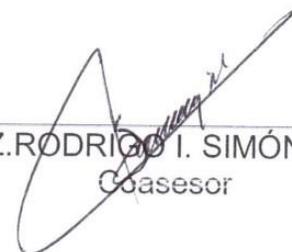
MONOGRAFÍA

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:


MSP. JOSÉ LUIS FCO SANDOVAL ELÍAS
Asesor Principal


MVZ. RODRIGO I. SIMÓN ALONSO
Coasesor


MVZ. DIANA E. SALAZAR NEVÁREZ


MVZ. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Diciembre 2018

AGRADECIMIENTOS

A dios, por darme la fuerza y bendiciones para realizar mis sueños.

A mis padres, Alicia Ramírez y Erasmo Hernández Rodríguez, por darme la vida y todo su amor, cariño, confianza y apoyo para poder alcanzar mis sueños.

A mis hermanos, Janet Hernández Ramírez y Luis Erasto Hernández Ramírez, por ser los mejores hermanos y siempre estar ahí conmigo apoyándome para cumplir mis metas.

A mis abuelos, Flora Antoña Rodríguez y Fidel Hernández Santander, por siempre brindarme su apoyo y sus sabios consejos para llegar al final de la meta.

A toda mi familia, por todos los consejos y apoyo que todos ustedes me dieron.

A la UAAAN mi alma mater, por aceptarme ser parte de ella y ser tan generosa con todo lo que me brindo a lo largo de mi formación como profesionista.

A la UNAM, por ser mi segunda casa de estudios y tratarme como uno más de ellos, brindándome herramientas y conocimientos para mi crecimiento profesional.

A la Familia Ávila Fraire, por considerarme un miembro más de su familia y haberme brindado todo su cariño y apoyo a lo largo de ese largo camino.

A la MVZ Rosaura Ávila Fraire, por ser mi maestra, compañera, jefa y sobre todo gran amiga, y estar conmigo siempre apoyándome.

A mis grandes amigos, Axel Castañeda, Melissa Sifuentes, Ana Reyes, Sofia Solís, Carlos Serna, María José Téllez, Luis waldir Alvares, stephany ortega, Wendy Salazar, samantha vega, Jesús Domínguez, Betsaida Basurto, Lina Valera por estar conmigo apoyándome en las buenas y en las malas.

A la Compañía de Danza Nahucalli, por permitirme ser parte de ella y ahí encontrar grandes amigos y tener experiencias inolvidables en mi estancia en su ciudad.

Al Dr. Francisco Sandoval Elías, por brindarme su apoyo para realizar este trabajo compartiendo sus conocimientos y experiencias.

A todos mis maestros, por darme las herramientas y conocimientos para afrontarme en el campo laboral y poder poner en alto el nombre de nuestra profesión.

A Clínica Veterinaria del Bosque, por darme la oportunidad de realizar mis prácticas profesionales en sus instalaciones, brindarme todas las herramientas y conocimientos para mi crecimiento profesional.

DEDICATORIAS

A mis padres, Alicia Ramírez y Erasmo Hernández Rodríguez, por ser mi ejemplo y apoyo para alcanzar mis metas.

A mis hermanos, Janet Hernández Ramírez y Luis Erasto Hernández Ramírez, por ser los mejoreros hermanos y quiero mucho.

A mis abuelos, Flora Antoña Rodríguez y Fidel Hernández Santander, por sus sabios consejos y ser los mejores.

A toda mi familia, por todos los consejos y apoyo que todos ustedes me dieron.

RESUMEN

La presente monografía se realizó en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, teniendo como objetivo general realizar una recopilación de información y documentación disponible sobre el tema de clasificación de las principales anemias en caninos, a través de bibliográficos, documentos, libros, artículos, journals en idiomas español e inglés.

como parte de la revisión de la literatura y documentación de información sobre este tema es para proporcionar una herramienta útil y rápida para poder clasificar, diagnosticar y abordar los diferentes casos de anemias en caninos que se presentan cotidianamente en los consultorios veterinarios, para así poder dar la terapia adecuada al paciente.

A pesar de que fisiológicamente “anemia” puede ser definida como una disminución en la capacidad de transportar oxígeno, para el clínico “anemia” se define como una disminución del hematocrito, concentración de hemoglobina, o recuento de glóbulos rojos (gr) por debajo de los valores de referencia.

La anemia es un hallazgo de laboratorio, no es una enfermedad. Es el descenso del número de eritrocitos, concentración de hemoglobina y hematocrito (volumen que ocupan los glóbulos rojos en la sangre), por debajo del límite inferior del rango de referencia para la especie. La anemia aparece como una alteración frecuente en perros y gatos y tiene un origen, un problema de base. Hay muchos tipos de anemias y las causas que la producen son múltiples. Los parásitos intestinales, los parásitos sanguíneos, determinados medicamentos, toxinas, tumores, hemorragias, problemas inmunes, agentes infecciosos y una gran variedad de enfermedades pueden cursar con anemia.

Hay muchos tipos de anemia, como la anemia por deficiencia de hierro, la anemia perniciosa, la anemia aplásica y la anemia hemolítica. Los distintos tipos de anemia tienen relación con diversas enfermedades y problemas de salud.

Palabras clave: Clasificación de anemias, Anemias, Hemoglobina, Eritrocitos.

INDICE

AGRADECIMIENTOS	<i>i</i>
DEDICATORIAS	<i>iii</i>
RESUMEN	<i>iv</i>
INDICE	<i>v</i>
INDICE DE FIGURAS	<i>vii</i>
INTRODUCCIÓN	1
1. ANTECEDENTES.	2
1.1. Hematopoyesis	2
1.2. Eritropoyesis	3
1.3. Eritrocitos	4
2. ÍNDICES ERITROCITARIOS	4
2.1. Hemograma	4
2.2. Índices eritrocitarios	6
2.3. Hemoglobina (Hb)	6
2.4. Hematocrito (Hto)	7
2.5. Volumen corpuscular medio (VCM)	8
2.6. Hemoglobina corpuscular media (HCM)	9
2.7. Concentración corpuscular media de la hemoglobina (CCMH)	9
2.8. Coeficiente de distribución de eritrocitos (RDW).	9
2.9. Hemoglobina reticulocitaria (RET-HE)	10
2.10. Recuento de reticulocitos	10
2.11. Frotis sanguíneo	11
2.12. Variables que caracterizan la anemia	12
3. CLASIFICACIÓN DE LAS ANEMIAS	12
3.1. Presentación clínica de las hemorragias	12
3.2. Respuesta medular	12
3.3. No regenerativa.	14

3.4. índices eritrocitarios _____	15
3.5. Presencia de hemolisis en el organismo _____	17
3.6. Anemia hemolítica inmunomediada (AHII). _____	18
3.7. Anemia por deficiencia de hierro _____	20
3.8. Anemia megaloblástica _____	21
LITERATURA CITADA _____	23

INDICE DE FIGURAS

<i>Ilustración 1. Mapa de la hematopoyesis en sus distintas fases (Day y Mackin.,2007)</i>	<u>2</u>
<i>Ilustración 2. Las diferentes fases morfológicas del eritrocito (Shelley y col.,2009).</i>	<u>3</u>
<i>Ilustración 3 alteraciones en las hematopoyesis producidas por el ATC (Shelley y col.,2009).</i>	<u>3</u>
<i>Ilustración 4 eritrocitos de un canino (McKenzie., 2013).</i>	<u>4</u>
<i>Ilustración 5. Hemograma, herramienta de laboratorio para el diagnóstico de las anemias (McKenzie., 2013).</i>	<u>5</u>
<i>Ilustración 6. hemoglobina y las partes que la componen (McKenzie., 2013).</i>	<u>7</u>
<i>Ilustración 7 representación gráfica de muestra sanguínea y sus hemocomponentes (Michelle., 2012).</i>	<u>8</u>
<i>Ilustración 8. alteración de los niveles sanguíneos en una anemia (Michelle., 2012).</i>	<u>10</u>
<i>Ilustración 9. frotis de sangre periférica en un canino (Michelle., 2012).</i>	<u>11</u>
<i>Ilustración 10. cuerpos de Heinz microscópico (Michelle., 2012).</i>	<u>20</u>

INTRODUCCIÓN

La anemia es un hallazgo frecuente en la clínica y en las pruebas de laboratorio, pero en sí misma no constituye a un diagnóstico. La aspiración última es determinar la patogénesis de anemia, para administrar la terapia más apropiada para el paciente y para tomar medidas para prevenir que no vuelva a pasar esta situación (Rodgers y Young.,2016)

La anemia se define como la reducción de la capacidad de la sangre para transportar oxígeno y se caracteriza por una disminución del hematocrito, hemoglobina y eritrocitos. El organismo, como respuesta a la anemia, compensa con un incremento de la frecuencia cardíaca y respiratoria, además hay un aumento del 2,3-DPG, lo que ocasiona una rápida liberación del oxígeno por parte de la hemoglobina. La anemia generalmente se considera como un signo clínico de enfermedad y los animales que la padecen manifiestan mucosas pálidas, debilidad, depresión, pérdida de peso, etcétera, son raras las ocasiones en que se presenta de manera subclínica (Ochoa, y Col.,2007).

La clasificación de las anemias en función de los mecanismos básicos fisiopatológicos, aportan una aproximación útil al diagnóstico del problema subyacente (Michael, y Col.,2004).

El diagnóstico de las enfermedades de los animales con el apoyo de los análisis de laboratorio es importante, ya que permite además realizar adecuados tratamientos, dar un pronóstico correcto y tomar medidas de prevención. Reconocer las alteraciones sanguíneas es el primer paso en la interpretación de los hemogramas, para luego solucionar las causas de distintas enfermedades. El hemograma completo es la medición del tamaño, el número y la madurez de las diferentes células sanguíneas en un volumen de sangre específico. El hemograma completo puede utilizarse para determinar muchas de las anormalidades relacionadas tanto con la producción como la destrucción de las células sanguíneas. Las variaciones de la cantidad, el tamaño o la madurez normal de las células sanguíneas pueden indicar una infección o enfermedad (Benjamín, 1991).

1. ANTECEDENTES.

1.1. Hematopoyesis

La hematopoyesis durante la vida intrauterina se inicia en el saco vitelino, en el hígado, en el bazo y en la médula ósea; en esta última se va incrementando gradualmente su actividad, y al nacimiento es el principal órgano hematopoyético. Durante la vida posnatal, en la mayoría de los mamíferos, la hematopoyesis se restringe a la médula ósea, mientras que el hígado y el bazo son usualmente inactivos, pero mantienen su potencial hematopoyético, mismo que se activa al incrementarse las necesidades de las células sanguíneas. La médula ósea roja activa es reemplazada por la médula amarilla en animales adultos, pero la hematopoyesis activa continúa a lo largo de la vida en los huesos planos y en las epífisis de los huesos largos (Provan, y col.,2012).

Todas las células sanguíneas de la medula ósea surgen de una célula madre en común multipotencial originada en las diferentes fases de la célula progenitoras, que, posteriormente, se diferencian en células de la serie eritrocítica, granulocítica, megacariocítica y granulocítica (monocitos y linfocitos). El resultado final de este proceso es la emisión del eritrocito, de los leucocitos y de las plaquetas del torrente sanguíneo (Hawkey, y Dennet.,1990).

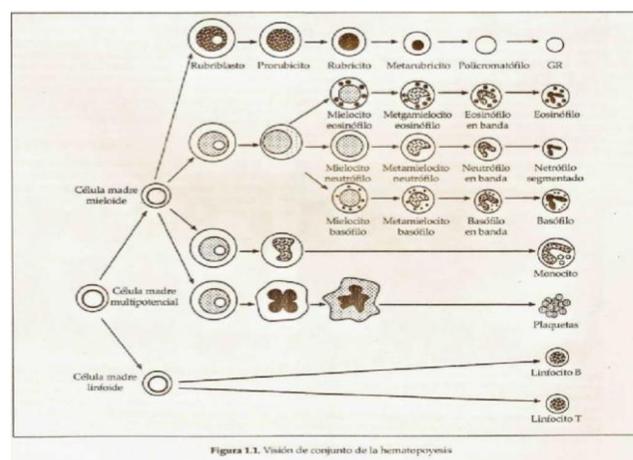


Ilustración 1. Mapa de la hematopoyesis en sus distintas fases (Day y Mackin.,2007).

1.2. Eritropoyesis

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 o 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 (Cowell y col.,1999).

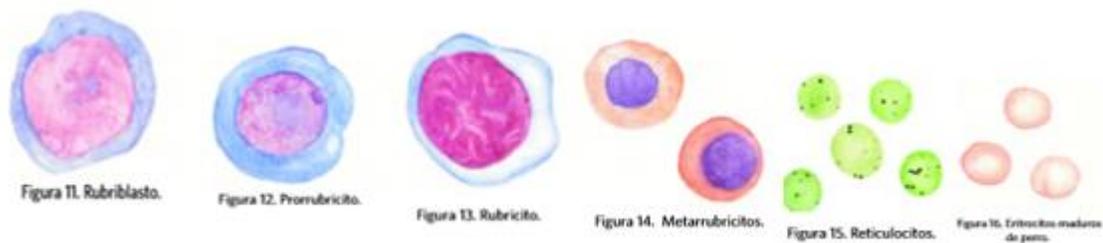


Ilustración 2. Las diferentes fases morfológicas del eritrocito (Shelley y col.,2009).

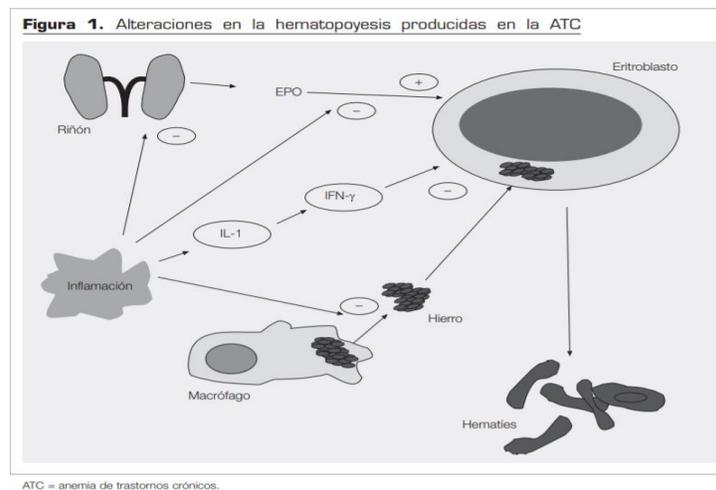


Ilustración 3 alteraciones en las hematopoyesis producidas por el ATC (Shelley y col.,2009).

1.3. Eritrocitos

La principal función de los eritrocitos o glóbulos rojos es la de transportar oxígeno y dióxido de carbono, esta función está relacionada con la hemoglobina. Los eritrocitos llevan el oxígeno de los pulmones a los tejidos y el dióxido de carbono en sentido inverso (McKenzie., 2013).

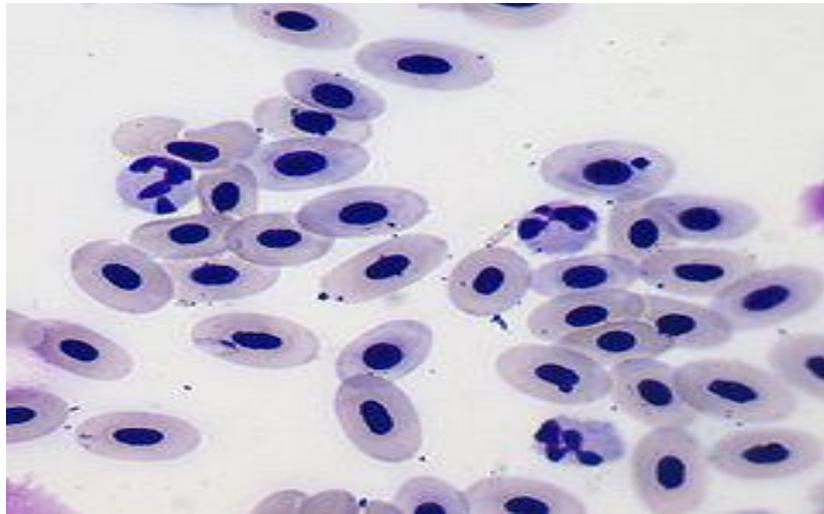


Ilustración 4 eritrocitos de un canino (McKenzie., 2013).

2. ÍNDICES ERITROCITARIOS

2.1. Hemograma

El hemograma es una de las pruebas diagnósticas más utilizadas en la práctica médica habitual. Los actuales analizadores automáticos permiten determinar con un grado elevado de fiabilidad, rapidez y un bajo coste los principales parámetros hematológicos en sangre periférica, aportando una valiosa información acerca de las tres series hemáticas (glóbulos rojos, blancos y plaquetas). Sin embargo, el

hemograma manual es insustituible para detectar buena parte de las alteraciones morfológicas (McKenzie., 2013).

Las anomalías en los estudios hematimétricos deben interpretarse adecuadamente para establecer su valor, indicar nuevas pruebas complementarias si es preciso y derivar al paciente al hematólogo con mayor o menor rapidez. Con frecuencia se utilizan como un método general de cribado de la salud del paciente, pero fuera de un contexto clínico específico el hemograma puede ser difícil de interpretar. Por ello, es fundamental hacer una buena indicación de estos estudios (McKenzie., 2013).

Cliente: (26042)	Género:	HOSPITAL VETERINARIO
Nombre del paciente: DARKKA	Peso: 0.0 kg	TOMAS BUSTAMANTE
Especie: Perro	Edad: 5 Años	LASAGA LARRETA N.4
Raza:	Doctor: BUSTAMANTE PEREZ,	www.tomasbustamante.com
	TOMAS	

Pruebas	Resultado	Rango referencia	BAJO	NORMAL	ALTO
LaserCyte (9 de noviembre de 2013 11:34 a.m.)					
RBC	4.72 M/μL	5.50 - 8.50	BAJO		
HCT	32.2 %	37.0 - 55.0	BAJO		
HGB	9.3 g/dL	12.0 - 18.0	BAJO		
MCV	68.3 fL	60.0 - 77.0			
MCH	19.8 pg	18.5 - 30.0			
MCHC	28.9 g/dL	30.0 - 37.5	BAJO		
RDW	16.6 %	14.7 - 17.9			
%RETIC	1.6 %				
RETIC	73.6 K/μL	10.0 - 110.0			
WBC	12.19 K/μL	5.50 - 16.90			
%NEU	64.5 %				
%LYM	19.9 %				
%MONO	14.3 %				
%EOS	1.2 %				
%BASO	0.1 %				
NEU	7.86 K/μL	2.00 - 12.00			
LYM	2.43 K/μL	0.50 - 4.90			
MONO	1.75 K/μL	0.30 - 2.00			
EOS	0.14 K/μL	0.10 - 1.49			
BASO	0.01 K/μL	0.00 - 0.10			
PLT	347 K/μL	175 - 500			
MPV	14.3 fL				
PDW	21.0 %				
PCT	0.50 %				
Catalyst Dx (9 de noviembre de 2013 11:35 a.m.)					
GLU	105 mg/dL	74 - 143			
BUN	31 mg/dL	7 - 27			ALTO
CREA	1.2 mg/dL	0.5 - 1.8			
BUN/CREA	26				
TP	9.0 g/dL	5.2 - 8.2			ALTO
ALB	1.8 g/dL	2.3 - 4.0	BAJO		
GLOB	7.2 g/dL	2.5 - 4.5			ALTO
ALB/GLOB	0.3				
ALT	30 U/L	10 - 100			
ALKP	68 U/L	23 - 212			
TBIL	0.3 mg/dL	0.0 - 0.9			
Na	145 mmol/L	144 - 160			
K	5.4 mmol/L	3.5 - 5.8			
Na/K	27				
Cl	110 mmol/L	109 - 122			
Osm Calc	297 mmol/kg				

Ilustración 5. Hemograma, herramienta de laboratorio para el diagnóstico de las anemias (McKenzie., 2013).

2.2. Índices eritrocitarios

los índices eritrocitarios definen la calidad de los eritrocitos producidos mediante la descripción del volumen corpuscular medio (MCV) y la hemoglobina corpuscular media (MCHC). En una respuesta muy regenerativa se espera una población de eritrocitos macrocítica (MCV elevado) e hipocrómica (MCHC bajo). Las poblaciones microcíticas (bajo MCV) e hipocrómicas (bajo MCHC), sin embargo, suelen aparecer en situaciones de déficit en la síntesis de hemoglobina, como en la deficiencia de hierro (Ochoa, y Col.,2007).

También se puede observar macrocitosis en gatos con mielodisplasia, en asociación con la administración de fármacos antiepilépticos, y raramente en algunos caniches (raza miniatura y toy) como una discrasia que se asemeja a la deficiencia de vitamina B12 y folato en humanos. En caniches esta patología no requiere tratamiento. La microcitosis puede observarse normalmente en las razas de perro japonesas Akita y Shiva inu y en algunos perros con puentes portosistémicos (Failace, y col., 2017)

2.3. Hemoglobina (Hb)

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 (Willard.,2000).

Sus funciones incluyen:

- 1) Transporte de oxígeno de los pulmones a los tejidos y bióxido de carbono en dirección opuesta (Pagana y Pagana.,2015).
- 2) Participa en la regulación del equilibrio ácido-base por la eliminación del bióxido de carbono de los pulmones y por acción amortiguadora de los grupos imidazol e histidina de la globina (Pagana y Pagana.,2015).

El hierro es un componente esencial de la Hb. Del total de hierro en el cuerpo, 65% está combinado en este pigmento, 4% en la mioglobina y 1% en las enzimas oxidativas; 15% se halla en forma de ferritina y hemosiderina, sustancias de

reserva del hierro, y 0.1% es encontrada en la transferrina, un compuesto de transporte. El restante 15% es hierro libre y otras formas (Kling y Hammand.,2001).

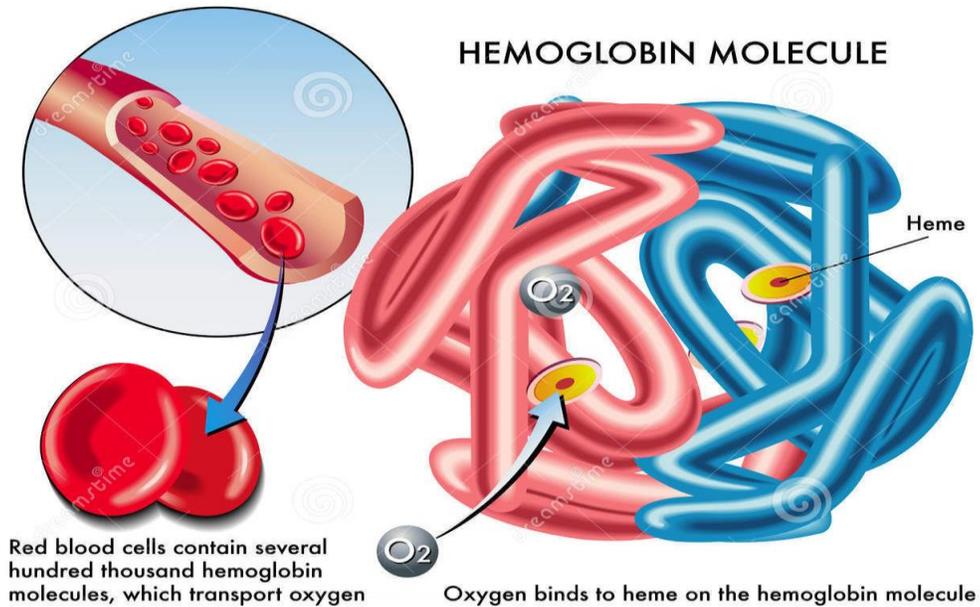


Ilustración 6. hemoglobina y las partes que la componen (McKenzie., 2013).

2.4. Hematocrito (Hto)

Se define el hematocrito (Hto) como la fracción de volumen que los eritrocitos ocupan en un volumen de sangre (Coby, 2003), un valor de hematocrito indica que se utilizó un método de centrifugación para separar la muestra sanguínea en tres capas (plasma, capa leucocitaria y concentración de eritrocitos) en el fondo de un tubo de vidrio (Failace, y col., 2017)

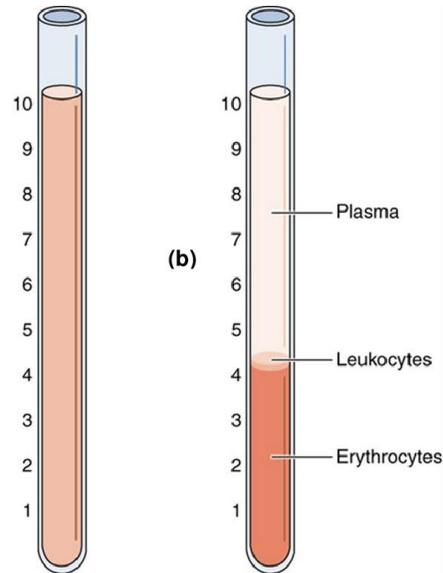


Ilustración 7 representación gráfica de muestra sanguínea y sus hemocomponentes (Michelle., 2012).

2.5. Volumen corpuscular medio (VCM)

El VCM indica el tamaño medio de los glóbulos rojos. Las células normocíticas son aquellas que tienen un VCM normal, las macrocíticas tienen un VCM elevado, y las microcíticas lo tienen bajo (Pagana, y col.,2015)

Pueden observarse un VCM elevado:

- Anemias regenerativas (causa más frecuente).
- En la circulación hay un número elevado de reticulocitos o de eritrocitos inmaduros. El VCM aparece elevado porque estas células son más grandes que los eritrocitos maduros (Thrall.,2009).

- Anemia macrocítica no regenerativa asociada al virus de la leucemia felina.

Puede observarse el VCM disminuido en:

- Deficiencia de hierro debido a hemorragias crónicas (causa más frecuente) el hierro es necesario para la síntesis de hemoglobina en los eritrocitos en la fase de maduración, la degeneración y la extrusión del núcleo se desencadenan cuando se alcanza una concentración crítica de hemoglobina.

En las deficiencias de hierro, la síntesis de hemoglobina es más lenta, por lo que la degeneración del núcleo se retrasa. El glóbulo rojo sufre divisiones celulares adicionales, dando lugar a macrocitos (Day y col.,2012).

2.6. Hemoglobina corpuscular media (HCM)

la HCM indica la cantidad (en peso) de hemoglobina que hay en un eritrocito medio. Depende del tamaño de los eritrocitos y su concentración media de hemoglobina. Una disminución en la HCM puede ser un indicador precoz de una inminente deficiencia de hierro, ya que la HCM disminuye antes que la VCM (Sanz y Carreras.,2005).

2.7. Concentración corpuscular media de la hemoglobina (CCMH)

La CCMH indica la concentración media de hemoglobina que hay en cada eritrocito. La hipocromacia indica que la CCMH es baja (Cowell y col.,1999).

La CCMH disminuye en:

- Anemias regenerativas, debido a que los glóbulos rojos inmaduros y los reticulocitos son más grandes y contienen relativamente menos hemoglobina por las células que los eritrocitos maduros.
- Anemias ferropénicas (Madrigal.,2010).

La CCMH aumenta:

- De forma artefactual debido al hemolisis.
- Si existe un gran número de esferocitos (como por ejemplo en la anemia hemolítica inmunomediada), ya que se desprenden fragmentos de la membrana celular sin que allá perdida de hemoglobina (Mouly., 2018).

2.8. Coeficiente de distribución de eritrocitos (RDW).

El RDW describe la variabilidad existente en el tamaño de los eritrocitos. Es más sensible que el VCM. Un número relativamente elevado de células deben de tener un tamaño anormal antes de que se vea elevado el valor medio (VCM). El RDW tiene en cuenta el tamaño de la distribución de toda la población de eritrocitos en lugar de dar un valor medio (Villalba y Sanchez.,2015).

2.9. Hemoglobina reticulocitaria (RET-HE)

La hemoglobina reticulocitaria es la proteína que contiene el hierro que transporta oxígeno y que se encuentra dentro de los reticulocitos. Debido al escaso tiempo de circulación de los reticulocitos (3 a 4 días), la hemoglobina reticulocitaria es un indicador sensible de las reservas de hierro para el desarrollo de eritrocitos (Sans-Sabrafen y col.,2006).

2.10. Recuento de reticulocitos

Los reticulocitos son eritrocitos inmaduros que carecen de núcleo. Estas células inmaduras son mayores que los RBC maduros, circulantes y se forman en la médula ósea, donde tienen lugar la mayor parte de la maduración del RCB (Carton.,2010).

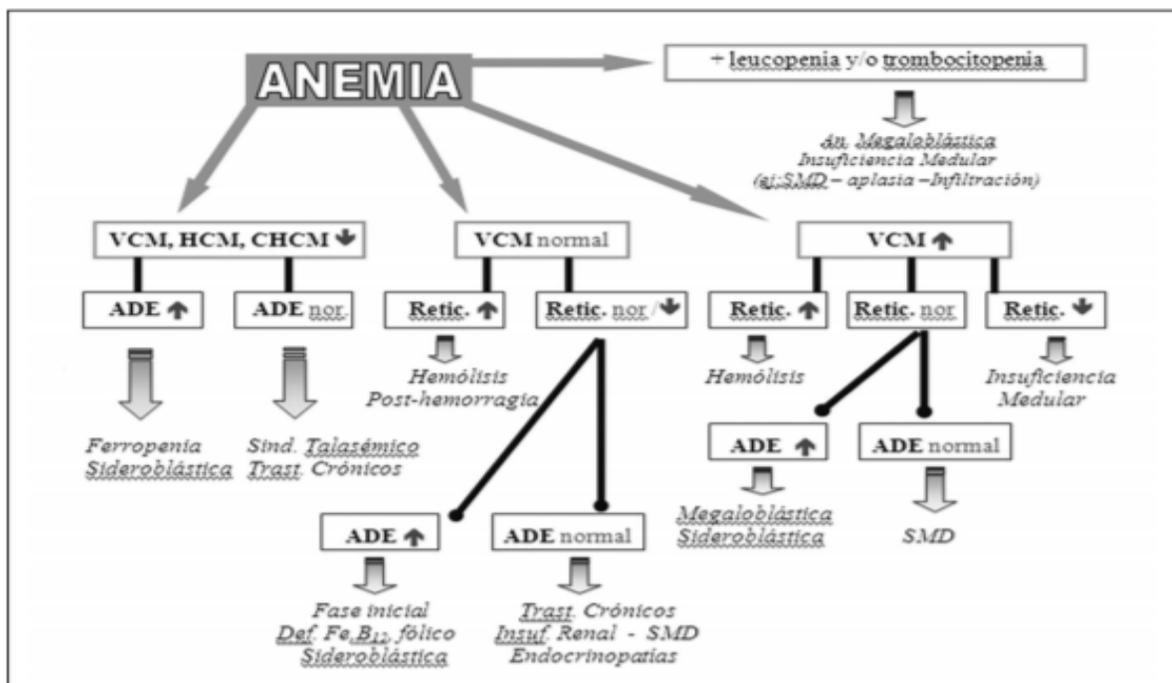


Figura 1. Algoritmo de estudio de anemias

Ilustración 8. alteración de los niveles sanguíneos en una anemia (Michelle., 2012).

2.11. Frotis sanguíneo

El frote periférico se utiliza para el estudio de las características citológicas de las células de la sangre, lo cual permite valorar el funcionamiento general de la médula ósea a través de sus componentes celulares, lo cual implica la evaluación de las líneas eritrocíticas, leucocitaria y megacariocítica, determinando anomalías en forma, tamaño, color e inclusiones citoplasmáticas, dando una medida cuantitativa y cualitativa de los elementos que lo conforman (Valeriano y col.,2015).

La preparación y tinción de un extendido de sangre periférica o de médula ósea es una técnica fundamental en hematología, ya que la información obtenida puede conllevar a:

- El diagnóstico correcto de una enfermedad.
- Orientar al clínico para brindar la terapéutica adecuada.
- Monitorear el proceso de recuperación del paciente (Arenas y Cortes.,2015).



Ilustración 9. frotis de sangre periférica en un canino (Michelle., 2012).

2.12. Variables que caracterizan la anemia

Una vez establecida la presencia de anemia, a partir del examen hematológico primario el primer paso para definir la fisiopatología del problema incluye la valoración de:

- La regenerativa; el recuento de reticulocitos.
- Índices eritrocitarios; volumen corpuscular medio (MCV) y concentración corpuscular media de hemoglobina (MCHC).

La morfología de los eritrocitos en la extensión sanguínea (Sans-Sabrafen y col.,2006).

3. CLASIFICACIÓN DE LAS ANEMIAS

3.1. Presentación clínica de las hemorragias

Se basa en el tiempo de instalación de la hemorragia y se clasifica en:

Aguda, si se presenta en las primeras 48 horas, las causas comunes son: quirúrgicas, traumáticas y gastroentéricas (Fossum.,2009).

Crónica, se manifiesta cuando la hemorragia es paulatina, por lo que la anemia es de instalación gradual. Algunos ejemplos de presentación son: ectoparásitos, como pulgas y garrapatas o por endoparásitos, como *Ancylostoma* spp. y *Haemonchus contortus*, en pequeñas especies y borregos, respectivamente (Hutchinson.,2015).

3.2. Respuesta medular

Se clasifica en:

Regenerativa. Una anemia regenerativa se presenta cuando la médula ósea responde ante la anemia y se caracteriza por:

◆ Reticulocitos. Incremento de reticulocitos circulantes, estos son eritrocitos inmaduros que se distinguen por presentar un precipitado reticular de ácido

ribonucleico (RNA), mitocondrias y organelos que se hacen evidentes mediante el uso de tinciones supravitales, como la tinción de azul de metileno o el azul de cresil brillante (William y col.2000).

Existen dos tipos de reticulocitos: los agregados y los punteados; los primeros presentan la malla reticular agregada, son los más inmaduros y los que se toman en consideración cuando se realiza el conteo; los punteados son más maduros y tienen pequeños agregados de RNA. Para realizar la técnica del conteo de reticulocitos, en un tubo de ensaye se colocan unas gotas de sangre y se adiciona la misma cantidad de tinción supravital, se deja reposar por 20 minutos a temperatura ambiente o, en su defecto, se incuban a 37 °C por 10 minutos. Posteriormente se realiza un frotis y se cuentan los reticulocitos (Richard y Couto.,2010).

En ellas la médula ósea, la “fábrica de glóbulos rojos”, responde bien a la anemia y aumenta la producción de eritrocitos. Como existe regeneración por parte de la médula, el problema estará en una causa fuera de la médula, habrá una pérdida de sangre o una destrucción de los glóbulos rojos. La regeneración sugiere una causa extramedular de anemia, una pérdida de sangre (hemorragia) o una destrucción de eritrocitos (hemólisis). Según esto, las anemias regenerativas podrán ser:

Anemias hemorrágicas: Son el resultado de una pérdida de sangre. La pérdida de sangre puede ser interna (cavidades corporales); o externa, a través de desgarros y heridas en piel, hemorragia gastrointestinal, pérdida por orina. Además, puede ocurrir de forma aguda por traumatismo, cirugía, problema de coagulación), o crónica por parásitos, problemas gastrointestinales, etc. (Day y col.,2012).

Anemias hemolíticas: Ocurren porque alguna causa hace que se destruyan los glóbulos rojos más rápido de lo que la médula ósea puede producirlos. Pueden estar producidas por parásitos, por sustancias que producen un daño oxidativo en la hemoglobina como el paracetamol o la cebolla, por alteraciones de tipo inmune, etc. A su vez las anemias hemolíticas pueden ser, intravasculares o extravasculares (Arenas y Cortes.,2015).

En la hemólisis intravascular, los eritrocitos son destruidos dentro de la circulación, liberando la hemoglobina al plasma de donde es eliminada bien por el hígado o bien es excretada por los riñones. En las anemias hemolíticas extravasculares, los eritrocitos dañados son secuestrados por determinadas células del hígado y bazo, donde, en ocasiones, estas células eliminan parcialmente la membrana del eritrocito (fragmentos) y otras veces causan su destrucción o acortan su vida media (Kling y Hammand.,2001).

3.3. No regenerativa.

Es la anemia que no manifiesta ninguno de los cambios anteriores y cuando se presentan reticulocitos resultan insuficientes para el grado de la anemia, entre las causas más frecuentes está la ocasionada por inflamación crónica, administración de fármacos (estrógenos, sulfas, quimioterapéuticos), insuficiencia renal crónica, enfermedades virales, deficiencia de hierro en cerdos en crecimiento y endocrinopatías, entre otras (Rascón y col.,2015).

En las anemias no regenerativas la médula ósea responde de manera anormal, y no puede mantener la “producción” normal de glóbulos rojos. Esto puede ser debido a causas extramedulares o medulares. Muchas anemias no regenerativas de perros y gatos son de carácter crónico (Bernadette.,2015).

Estos tipos de anemia se suelen detectar de manera “accidental” durante la exploración rutinaria o un chequeo ya que el animal suele ser asintomático para su propietario porque en muchos casos la anemia es leve y tiene poca sintomatología. La causa del “mal” funcionamiento de la médula ósea puede ser un problema existente fuera de la médula, por ejemplo, un déficit de hierro que hace que no se pueda formar hemoglobina conduce a anemia (Rodgers y Young.,2016).

La anemia de enfermedad crónica es otro tipo de anemia no regenerativa muy frecuente en perros y gatos secundaria a una gran variedad de procesos inflamatorios, degenerativos y neoplásicos (tumores). Cuando existe una insuficiencia renal o hepática crónica también aparece una anemia no regenerativa, en el caso de la insuficiencia renal por un déficit de eritropoyetina que es una

hormona que estimula la producción de glóbulos rojos y en el caso de la insuficiencia hepática crónica porque se produce una alteración en la membrana de los eritrocitos que acorta su vida (Reyes y Arguelles.,2014)

En enfermedades endocrinas también es frecuente que aparezca este tipo de anemia. Otras veces la causa del mal funcionamiento de la médula es por un problema de la propia médula. Aparece una aplasia (desaparición de las células encargadas de la producción de la sangre en la médula ósea) o hipoplasia medular por el uso de algunos fármacos o toxinas que pueden destruir precursores de los glóbulos rojos. También algunos virus como el de la leucemia felina (FeLV) o el del moquillo, o microorganismos como los que producen la Leishmaniosis o la Ehrlichiosis puede producir este problema (Kling y Hammand.,2001).

Los tumores de médula ósea como la Leucemia o el Mieloma también producen estas anemias. En definitiva, cuando se obtiene un resultado de un análisis y los resultados son compatibles con una anemia estamos sólo ante un dato a partir del cual el veterinario deberá elaborar un diagnóstico. El diagnóstico, como siempre hemos dicho, deberá basarse en la historia clínica (Bistner.,2002).

3.4. índices eritrocitarios

Se clasifica en:

- ◆ Anemia normocítica normocrómica
- ◆ Anemia macrocítica hipocrómica
- ◆ Anemia macrocítica normocrómica
- ◆ Anemia microcítica hipocrómica

Las anemias normocíticas normocrómicas son no regenerativas, con excepción de la que se presenta por hemorragias agudas y hemólisis, que tiende a la regeneración (Ochoa.,2017).

Anemia macrocítica hipocrómica. En esta anemia los eritrocitos son más grandes de lo normal y tienen menor cantidad de hemoglobina; se caracteriza por reticulocitos, policromasia e hipocromía, esta última se asocia a una síntesis de hemoglobina incompleta; se presenta cuando existe recuperación del volumen sanguíneo debida a alguna pérdida por procesos hemolíticos. Este tipo de anemia es la única que es regenerativa (Kenneth y col.,2005).

Anemia macrocítica normocrómica. Se caracteriza por un mayor tamaño de los eritrocitos y con la misma cantidad de hemoglobina que un eritrocito normal. Se presenta por una detención en la diferenciación del eritrocito en la etapa de rubricito, lo que ocasiona una falta de división celular. Este tipo de anemia se presenta por deficiencia de ácido fólico, vitamina B12 y cobalto (Kenneth.,2009)

El ácido fólico actúa como coenzima con la vitamina B12, en la formación de ácido nucleico.

Cobalto, esencial en el metabolismo de la vitamina B12 en rumiantes.

Es raro encontrar este tipo de anemia en animales, las causas más comunes son: en gatos, leucemia viral felina e inmunodeficiencia felina, y como un paso previo a la anemia macrocítica hipocrómica; probablemente esta anemia se presenta por un efecto mielodisplásico directo del virus. En perros de raza poodle es común observar macrocitosis (Rodgers y Young.,2016).

Anemia microcítica hipocrómica. Es una anemia con eritrocitos más pequeños y con menos cantidad de hemoglobina que un eritrocito normal. Ocurre cuando se detiene la etapa de diferenciación en rubricito, ocasionando una doble división del mismo, cuya consecuencia son eritrocitos más pequeños, con menos cantidad de hemoglobina. La causa de este tipo de anemia es la deficiencia de hierro, piridoxina o cobre (Danza.,2009).

El cobre, en su forma de ceruplasmina, es importante en la liberación del hierro del tejido al plasma.

El hierro es necesario para la síntesis de la hemoglobina.

La piridoxina, vitamina del complejo, actúa como coenzima en la formación del grupo hem de la hemoglobina (Reyes y Arguelles.,2014)

Otra de las causas de este tipo de anemia se observa cuando los animales presentan inflamación crónica debida al secuestro de hierro por los macrófagos. Este efecto se presenta por liberación de interleucinas por los macrófagos, principalmente IL-1, IL-6 y el factor de necrosis tumoral. Es importante destacar que en casos de inflamación crónica es más común encontrar la anemia normocítica normocrómica (Villiers.,2009).

Otra causa de anemia microcítica hipocrómica se ha visto en animales con puentes portosistémicos por alteración del metabolismo del hierro.

Cabe señalar que la Akita es una de las razas que presentan microcitosis de manera normal (Provan y col.,2015).

3.5. Presencia de hemolisis en el organismo

Se clasifica en:

Hemólisis intravascular. La destrucción de eritrocitos ocurre dentro del vaso sanguíneo, se caracteriza por hemoglobinemia y hemoglobinuria. Algunas causas de este tipo de hemólisis son:

- ◆ Parásitos. Babesia spp., Haemoproteus (Georgi y Georgi.,1999).
- ◆ Babesiosis. El agente etiológico es Babesia spp., protozooario transmitido por garrapatas del género Boophilus, se localiza dentro del eritrocito y puede ocasionar hemólisis intravascular por daño directo del eritrocito por el protozooario (Georgi y Georgi.,1999).
- ◆ Bacterias. Leptospira spp., no afectan directamente los glóbulos rojos, sino que liberan una hemolisina hacia la circulación, ocasionando hemólisis intravascular aguda (Torrente y Bosch.,2012).

◆ Virus. se asocia a anemia hemolítica inmunomediada por adsorción del virus a la membrana del eritrocito, esto se puede presentar en anemia infecciosa equina, con unión del complemento (Bernadette.,2015).

3.6. Anemia hemolítica inmunomediada (AHII).

Es la causa más común de anemia en algunas especies, la etiología se desconoce, pero es posible que se desarrolle la síntesis de anticuerpos por algunos virus o drogas que alteran la membrana del eritrocito. La AHII se desencadena por la presencia de anticuerpos antieritrocíticos que se fijan a la superficie del glóbulo rojo y la destruyen. La hemólisis puede ser intravascular o extravascular, esto depende del anticuerpo involucrado (Rodgers y Young.,2016).

Los anticuerpos contra los eritrocitos son inmunoglobulinas IgG e IgM; cuando las inmunoglobulinas se fijan al eritrocito, se libera complemento, y si la cascada se completa, se destruye el eritrocito en el vaso sanguíneo. La mayoría de las anemias mediadas por IgM son intravasculares, ya que estas inmunoglobulinas activan gran cantidad de moléculas de complemento, por lo que el sistema inhibitor del mismo es excedido (Tizar,2002).

Las anemias mediadas por IgG son extravasculares, ya que no activan el complemento con rapidez. La AHII se caracteriza por ser muy regenerativa, por presentar aglutinación y esferocitosis. Los esferocitos se forman porque los eritrocitos que se hallan revestidos de inmunoglobulinas y de complemento, al pasar por el bazo y el hígado, son detectados por los macrófagos ahí presentes, que tienen receptores superficiales para inmunoglobulinas y complemento; el macrófago se fija entonces a la membrana del eritrocito y elimina esa porción, formando, por lo tanto, el esferocito (Ochoa.,2017).

Cuando un frotis muestra aglutinación se debe diferenciar del rouleaux; una técnica sencilla para ello es agregar a una gota de sangre una gota de solución salina, se homogeneiza y se observa al microscopio; si los eritrocitos se separan, se trata de rouleaux, y si no lo hacen, se trata de aglutinación. Existe una prueba para confirmar el diagnóstico de AHII; es una prueba directa para inmunoglobulinas que se hace

mezclando eritrocitos lavados del paciente con el reactivo de Coombs (anticuerpos anti IgG y anti C3 específicos de especie). Si el eritrocito está cubierto, las moléculas de reactivo de Coombs sirven de puente y ligan los eritrocitos afectados entre sí para formar un enrejado aglutinado. Esta prueba no es necesaria si ya es evidente la aglutinación (Willard.,2000).

Existen casos donde los anticuerpos antieritrocíticos se adhieren cuando la temperatura corporal es inferior a la normal, a esto se le llama enfermedad por crioaglutininas, se manifiesta principalmente en invierno o en climas fríos, se ven afectadas con mayor frecuencia las extremidades y puede provocar necrosis de orejas, dedos y cola (Bistner.,2002).

Hemólisis extravascular. Se presenta cuando la destrucción del eritrocito se lleva a cabo en el sistema macrófago fagocitario. Las causas son:

Haemobartonellosis, que es una enfermedad ocasionada por *Haemobartonella* spp. y que hoy en día se clasifica como micoplasma (anteriormente clasificado como rickettsia). Ocasiona anemia hemolítica, principalmente en gatos, aunque también se ha informado de casos en perros (Bernadette.,2015).

Los microorganismos de *Hemobartonella felis* son pequeños cuerpos esféricos, aproximadamente de 1 μm de diámetro, que forman cadenas en la superficie del eritrocito; los eritrocitos infectados son secuestrados en bazo, reconocidos como anormales por los macrófagos esplénicos y eliminados mediante fagocitosis (Barr y Bowman.,2017).

Cuerpos de Heinz. Los cuerpos de Heinz son masas de hemoglobina precipitada, que se forman por la oxidación de la globina de la molécula de hemoglobina. Normalmente, los eritrocitos poseen un sistema glutatión peroxidasa/reductasa junto con el fosfato de dinucleótido nicotinamida-adenina (NADPH) reducido, que protege la globina de la oxidación (Willard.,2000).

La presencia de estos precipitados disminuye la flexibilidad de los eritrocitos y si se destruye al pasar por pequeñas aberturas sinusoidales, se produce una hemólisis intravascular, pero si el eritrocito es atrapado y fagocitado por el sistema macrófagos

fagocitario, se presenta una hemólisis extravascular. Los gatos son más susceptibles a la formación de cuerpos de Heinz porque las moléculas de globina contienen gran cantidad de aminoácidos azufrados que se oxidan con facilidad; en gatos normales se espera encontrar 10% de cuerpos de Heinz en los eritrocitos circulantes y principalmente en aquellos animales a los que se les aporte alimento con propilen glicol (Davidson y col.,2000).

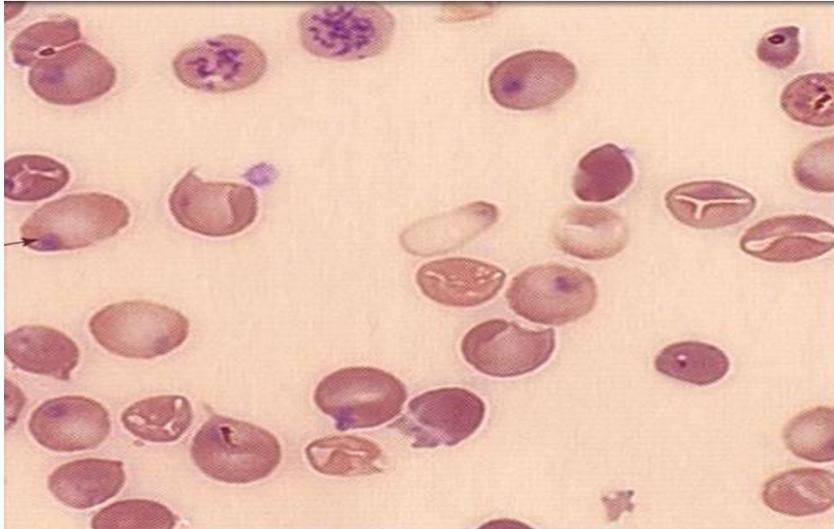


Ilustración 10. cuerpos de Heinz microscópico (Michelle., 2012).

En frotis sanguíneos teñidos con Wright, los cuerpos de Heinz se observan como pequeñas salientes en la superficie del eritrocito, y con tinciones supravitales adquieren un color azul intenso. Entre las causas que favorecen la formación de cuerpos de Heinz se encuentran aquellas que propician la liberación de fuertes oxidantes como: intoxicación con cebolla, acetaminofeno, ácido acetil salicílico, propilen glicol (aditivo de alimento comercial para animales), intoxicación con maple rojo en caballos, intoxicación con zinc, intoxicación con cobre, etcétera (Coffin.,1986).

3.7. Anemia por deficiencia de hierro

La anemia por deficiencia de hierro es la que con mayor frecuencia se observa en la medicina de pequeños animales ya sea como resultado de una ingestión

insuficiente de hierro en la dieta, o por pérdida crónica de sangre (Kenneth y col.,2005).

El sesenta y cinco por ciento del hierro corporal está en la hemoglobina, el 3% en la mioglobina, el 2% en las enzimas y el 30% en las formas de almacenamiento de hemosiderina y ferritina (Rascón y col.,2015).

Durante la deficiencia de hierro, lo primero que se agota es el hierro almacenado, mientras que la concentración de hemoglobina sanguínea está relativamente disponible. Una vez la deficiencia de hierro a progresado hasta el punto de causar anemia, el hierro corporal almacenado estará completamente agotado. Con una terapia de administración de hierro, la concentración de hemoglobina incrementa antes que las reservas naturales se hayan recuperado (Arenas y Cortes.,2015).

La terapia para la deficiencia de hierro debería, por lo tanto, continuarse el tiempo necesario hasta que el valor del hematocrito vuelva a ser normal (Madrigal.,2010).

3.8. Anemia megaloblástica

La anemia megaloblástica es una manifestación de un defecto en la síntesis de ADN, que compromete a todas las células del organismo con capacidad proliferativa (enfermedad megaloblástica). La expresión clínica de este defecto se hace evidente en forma precoz en aquellos territorios celulares cuya renovación es más rápida: médula ósea, epitelios mucosos y gónadas, principalmente. La síntesis defectuosa de ADN conduce a la activación de la apoptosis y a la hemólisis (intra y extramedular) causantes de la hemopoyesis inefectiva y del acortamiento en la sobrevivencia eritrocitaria propios de esta afección (Tizar,2002).

Las causas más frecuentes de megaloblastosis son las alteraciones metabólicas de la vitamina B12 y de los folatos (factores de maduración). Éstos participan en el transporte de metilos, indispensables para la proliferación y división celular (Valeriano y col.,2015).

La vitamina B12 también es necesaria para la síntesis de mielina. La anemia megaloblástica puede ser adquirida o congénita, siendo más frecuente la primera

(Los defectos primarios son mutaciones y polimorfismos genéticos, la mayoría de los pacientes presenta manifestaciones hematológicas (Michael, y Col.,2004).

LITERATURA CITADA

1. Amy C. Valeriano, Rick L. Cowell, Theresa E. Rizzi, Ronald D. Tyler, 2015. Atlas de frotis de sangre en perros y gatos. Barcelona España.
2. Arenas Bermejo Carolina, Cortes García Noemí, 2015. Procedimientos en medicina de urgencia, para el clínico de pequeñas especies. Edit multimedia ediciones veterinarias, Argentina.
3. Bernadette F. Rodak, Jacqueline H. Carr, 2015. Atlas de hematología clínica. 4ta edición España.
4. C.M. Hawkey y T.B. Dennet, 1990. Hematología veterinaria comparada. España.
5. Carlos Torrente, Luis Bosch, 2012. Medicina de urgencias en pequeños animales. SERVET, Zaragoza España.
6. David L. Coffin, 1986. Laboratorio clínico en medicina veterinaria. Mexico D.F.
7. Davidson M.G., Else R.W., Lumsden J.H., 2000. Manual de patología clínica en pequeños animales. España.
8. Drew Provan, Trevor Biglin, Inderjeet Dokal, 2015. Manual de Hematología clínica. 4ta edición España ELSEVIER.
9. Elizabeth Villiers, 2009. Manual de diagnóstico de laboratorio en pequeños animales. Barcelona España.
10. Fragio. C. Danza E, 2009. Transfusión sanguínea en perros y gatos. Rev. medicina en pequeñas especies. España.
11. G. Ruiz Reyes, A. Ruiz Arguelles, 2014. Fundamentos de interpretación clínica de los exámenes de laboratorio. 2da edición, Madrid España.
12. Griffin P. Rodgers, Neal S. Young, 2016. Hematología clínica. 3ra edición, España.
13. Hackner S., 2009. Trasfusiones sanguíneas y hemoderivados. In Proceedin. XXVI congreso anual AMVAC.

14. Ignacio López Villalba, Ignacio Mesa Sánchez, 2015. guía practica de interpretación analítica y diferencial en pequeños animales HEAMTOLOGIA Y BIOQUIMICA. Zaragoza España.
15. J. Sans-Sabrafen, C. Besses Raebel, J.L. Vives Coerrons, 2006. Patología clínica. España ELSEVIER.
16. J.R. Georgi, M.E. Georgi, 1999. Parasitología en clínica canina. Medico D.F.
17. James Carton, 2010. Manual de patología clínica. Barcelona España.
18. Javier Mouly, 2018. Emergencia y cuidados críticos en pequeños animales. Barcelona España.
19. Johnny D. Hoskins, 2004. Geriátría y gerontología del perro y del gato. 2da edición, Buenos Aires Argentina.
20. Jorg M. Steiner, 2010. Gastroenterología en pequeños animales. Madrid España.
21. José Joaquín Ceron Madrigal, 2010. Análisis clínicos en pequeños animales. Barcelona España.
22. Joseph D. Roder, 2000. Manual de toxicología veterinaria. Instituto nacional de toxicología, España.
23. Kathleen Pagana, Timothy Pagana, 2015. Laboratorio clínico indicaciones e interpretación de resultados. España.
24. Kenneth S. Latimer, Keith W. Prasse, Edward A. Mahaffey, 2005. Patología clínica veterinaria. 4ta edición, España.
25. Kirk, R, Bistner, S. 2002. Manuela de terapéutica y procedimientos de urgencia en pequeños animales. Editorial interamericana, McGrawHill.
26. Lesley Kling, Richard Hammand, 2001. Manual de urgencias y cuidados intensivos en pequeños animales. Barcelona España.
27. Luis Núñez Ochoa, 2007. Patología clínica veterinaria. 2da edición México D.F.
28. M. Ángeles Daza, 2004. Intoxicación más frecuente en pequeños animales, Rev. AVEPA España.
29. Mary Anna Thrall, 2009. Hematología e bioquímica clínica veterinaria. Argentina.

30. Maxine M. Benjamín, 1991. manual de patología clínica en veterinaria. tercera edición, México D.F.
31. Michael Day, Andrew Mackin, 2007. Manual de Hematología y transfusión de pequeñas especies. España.
32. Michael Day, Andrew Mackin, Janet Littlewood, 2012. Manual de hematología y transfusión en pequeños animales. España.
33. Miguel A. Sanz, Enric Carreras, 2005. Manual práctico de hematología clínica. Barcelona España.
34. Pilar Muñoz Rascón, Juan Morgas Rodríguez, Alba Galán Rodríguez, 2015. Manual clínico del perro y el gato. 2da edición, España ELSEVIER.
35. Renato Failace, Flavio Beno Fernandes, 2017. HEMOGRAMA. Manual de interpretación. 6ta edición, España.
36. Richard W. Nelson, C. Guillermo Couto, 2010. Medicina interna de pequeñas especies. España, Elsevier.
37. Rick L. Cowell, Ronald D. Tyler, James H. Meinkoth, 1999. Citología y hematología diagnóstica en el perro y en el gato. España.
38. Shelly L. Vadem, Joyce S. Knoll, Francis W.K. Smith, 2009. Laboratory tests and diagnostic procedure pure canine & feline. USA.
39. Shirlyn B. McKenzie, 2013. Hematología clínica. 2da edición, Barcelona España.
40. Simón Martí Angulo, 2013. Medicina pediátrica en pequeños animales. SERVET España.
41. Stephen C. Barr, Dwinght D. Bowman, 2007. Enfermedades infecciosas y parasitología en caninos y felinos. Buenos Aires Argentina.
42. Theresa Welch Fossum, 2009. Cirugía en pequeños animales. Tercera Edición, Madrid España.
43. Tim Hutchinson, 2015. Medicina canina. Barcelona España.
44. Tizar, Ian, 2002. Inmunología veterinaria. Edit interamericana McGrawHill Mexico.
45. Willard Tvedten Turnward, 2000. Clinical diagnosis by laboratory methods. 2ND Edition. USA.

46. William J. Reagan, Teresa G. Sanders, Dennis B. Denicofa, 2000.
Hematología veterinaria. Madrid España