



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ANÁLISIS DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DEL LEUCOGRAMA EN
EL HEMOGRAMA AUTOMATIZADO

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos
establecidos para optar por el título de Médico Veterinario Zootecnista

Profesor

Dr. Leonardo Arias Cárdenas

Autor

Erick Xavier Cordero Puyol

Año

2016

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”

Dr. Leonardo Arias Cárdenas
Doctor en Medicina Veterinaria y Zootecnia
C.I. 1706591441

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.

Erick Xavier Cordero Puyol

C.I. 0915799217

AGRADECIMIENTOS

Inmensamente agradecido con Dios por permitirme los medios para conocer y ser parte de tan noble y hermosa profesión; y a su vez el mas gratificante sentimiento de haber aprendido, a trabajar con el corazón y la razón, de una excelentísima profesional apasionada en su trabajo, Paulina Cabezas Pardo.

RESUMEN

El hemograma es uno de los métodos de acercamiento diagnóstico más utilizado en las clínicas veterinarias y es el que cubre mayor probabilidad calificativa general respecto a un gran número de patologías o alteraciones en la salud de los individuos. Debido a la creciente demanda de dicho examen laboratorial, la tecnología ha reemplazado parcialmente la necesidad de métodos convencionales con la finalidad de realizar procesos más eficaces y eficientes; mas los estudios datan hallazgos y particularidades de dicho examen que en la actualidad no pueden ser cubiertos por las tecnologías desarrolladas. De ahí nace la iniciativa de analizar cualitativa y cuantitativamente una porción de la biometría hemática, el leucograma, con la finalidad de generar un análisis de validez del uso del método automatizado a través del método convencional más específico en la actualidad, el método manual.

El experimento se realizó en 384 caninos domésticos, a través de análisis del leucograma automatizado y manual. Ambos métodos se realizaron bajo reglamentaciones y protocolos establecidos bajo estándares de publicaciones científicas. Se identificaron diversas formas leucocitarias presentes en un alto porcentaje de leucogramas, situación que no se identifica bajo la metodología automatizada. Sin embargo la automatización de procesos permite optimizar recursos y tiene ciertas virtudes cuantitativas superiores.

La interpretación de los resultados debe manejarse con criterio, conociendo la metodología con la que se realiza; así como la fisiopatología según la presentación clínica del individuo a evaluar y conocer a la vez la fisiología del individuo para poder interpretar las representaciones celulares.

ABSTRACT

Hematic biometry is one the most common methods to diagnostic approach used in veterinary clinics and is the one that covers greater general probabilities regarding alteration in the patient's health. Due to a growing demand of hematic biometry, technology has partially replaced the necessity of using conventional methods with the purpose of generating more efficient processes, yet many studies state findings and particularities of this test that cannot be covered by developed technologies. Here is where the initiative of analyzing the qualitative and quantitative portion of the thematic biometry, the leucogram, begins. Its purpose is to generate a valid analysis of the use of the automated method through a more conventional and specific method known to date, the microscopic observation.

The experiment took place in 384 domestic canines by automated and manual leucogram. Both methods where carried through under strict regulations and protocols based on scientific publication standards. Diverse leucocitary forms where identified in large quantities and representative percentages in the leukograms, situation that couldnt have been able to be carried out through automated leukogram. Nevertheless, automatization of such processes allows optimization of resources and has certain quantitative advantages.

Interpretation of the results must be managed with great criteria, taking into account the methodology of the process; at the same time it is important to have in mind physiopathology, clinical presentation the individual and its physiology.

ÍNDICE

Introducción	1
1. Capítulo I	
1.1. Antecedentes	3
1.2. Alcance	4
1.3. Justificación	5
1.4. Objetivos	5
1.4.1. Objetivo general	5
1.4.2. Objetivos específicos	5
2. Capítulo II	
2.1. Marco Teórico	7
2.1.1. Muestras	8
2.1.1.1. Recolección	9
2.1.1.1.1. Materiales para la recolección	9
2.1.1.1.2. Sitios de venopunción	10
2.1.1.2. Manejo	12
2.1.1.2.1. Contador Hematológico Automatizado	14
2.1.1.2.1.1. Fundamentos y tecnologías	15
2.1.1.2.1.1.1. Impedancia	15
2.1.1.2.1.1.2. Análisis cuantitativo de Buffy Coat	16
2.1.1.2.1.1.3. Citometría de Flujo	16
2.1.1.2.2. Conteo Manual de Leucocitos	17
2.1.1.2.2.1. Pipeta de Thoma	17
2.1.1.2.2.2. Cámara de Neubauer	18
2.1.1.2.2.3. Diferencial de Leucocitos	21
2.1.1.2.2.3.1. Morfología	23
2.1.1.2.2.3.2. Inclusiones	30

2.1.1.2.2.3.3.Variaciones y Correcciones	33
--	----

3. Capítulo III

3.1.Materiales	36
3.1.1.Biológicos	36
3.1.2.No Biológicos	36
3.2.Métodos	37
3.3.Diseño Experimental	38
3.4.Manejo del Experimento	39

4. Capítulo IV

4.1.Resultados y Discusión	49
4.1.1.Análisis estadísticos	49

5. Capitulo V

5.1.Conclusiones y Recomendaciones	62
5.1.1.Conclusiones.....	62
5.1.2.Recomendaciones	64

6. Referencias	66
----------------------	----

7. Anexos	68
-----------------	----

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. T de Student para Leucocitos	50
Tabla 2. T de Student para Neutrófilos	51
Tabla 3. T de Student para Linfocitos	53
Tabla 4. T de Student para Monocitos	54
Tabla 5. T de Student para Eosinófilos	55
Tabla 6. T de Student para Basófilos	57
Tabla 7. Hallazgos cualitativos	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Toma de muestra sanguínea en vena yugular	12
Figura 2. Llenado y homogenización de tubo con EDTA	13
Figura 3. Etiqueta de tubo	13
Figura 4. Homogenizador sanguíneo	14
Figura 5. Pipeta de Thoma para leucocitos	18
Figura 6. Cámara de Neubauer	19
Figura 7. Plataforma de cámara de Neubauer	19
Figura 8. Dinámica de conteo	20
Figura 9. Esquema de conteo	20
Figura 10. Formula para calcular conteo total de leucocitos	21
Figura 11. Confección de frotis sanguíneo	21
Figura 12. Tinción de Wright	22
Figura 13. Método para realizar el diferencial de leucocitos	22
Figura 14. Cuerpo de Döhle en neutrófilo tóxico	23
Figura 15. Basofilia citoplasmática en neutrófilo tóxico	24
Figura 16. Neutrófilo tóxico canino con granulación eosinofílica	24
Figura 17. Neutrófilos tóxico con citoplasma vacuolado	25
Figura 18. Neutrófilo tóxico gigante	26
Figura 19. Neutrófilo tóxico en anillo	26
Figura 20. Neutrófilo en Banda	27
Figura 21. Anomalía de Pelger-Huët	28
Figura 22. Neutrófilos hipersegmentado en perra un día después de OVH por piometra	29
Figura 23. Gran linfocito reactivo	29
Figura 24. Linfocitos atípicos en un perro con leucemia linfocítica	30
Figura 25. Inclusión de Distemper canino en neutrófilo	31
Figura 26. Mórula de E. ewingii en neutrófilo canino	32
Figura 27. Hepatozoon canis distorsionando la forma citoplasmática y nuclear de un neutrófilo	33

Figura 28. Gran figura mitótica en paciente leucémico	33
Figura 29. Mastocitemia en paciente con mastocitoma esplénico	34
Figura 30. Formula para corrección de Leucocitos	35
Figura 31. Homogenizador sanguíneo	39
Figura 32. Contador Hematológico Automático, Abaxis VetScan HM5	40
Figura 33. Materiales para conteo manual	41
Figura 34. Llenado y limpieza de sangre en la pipeta de Thoma	42
Figura 35. Llenado con la solución de Turk	43
Figura 36. Mezcla de la pipeta de Thoma	43
Figura 37. Desecho de las tres primeras gotas	44
Figura 38. Llenado de cámara de Neubauer	44
Figura 39. Conteo total de leucocitos	45
Figura 40. A. Plataforma de conteo de cámara de Neubauer (40X)	
B. Cuadrante para conteo de leucocitos (100X)	46
Figura 41. Confección del frotis sanguíneo	46
Figura 42. Tinción de Wright	47
Figura 43. Diferencial de leucocitos	48
Figura 44. Hallazgos cualitativos, porcentajes representativos	
de hallazgos cualitativos.	59
Figura 45. Hallazgos cualitativos en leucogramas	
sin alteraciones cuantitativas	60
Figura 46. Hallazgos más predominantes dentro y fuera de rango	61

INTRODUCCIÓN

La hematología, de los elementos hemato “sangre” y logía “estudio”, es una subespecialidad de la medicina que se encarga del estudio e investigación de la sangre y órganos hematopoyéticos tanto sanos como enfermos (Diccionario de la Real Academia Española, 2014).

Dentro de la hematología se estudia los componentes de la sangre donde se encuentra la línea roja, línea blanca y plaquetas, también le pertenece el estudio de la coagulación y transfusiones sanguíneas.

El estudio de la sangre se lo obtiene mediante el hemograma o biometría hemática, siendo esta la técnica diagnóstica más solicitada por los médicos veterinarios en la actualidad, ya que es uno de los exámenes esenciales que se realizan para llegar a un diagnóstico.

En el hemograma se valora el hematocrito, hemoglobina, índices eritrocitarios, conteo total celular, diferencial y morfología de eritrocitos, leucocitos y plaquetas. Siendo que en perros y gatos se muestran más patologías hematológicas que en otras especies, el estudio hematológico se vuelve indispensable en pequeños animales (Day, Mackin y Littlewood, 2012, pp. 3).

Los sistemas de instrumentación diagnóstica han evolucionado para ser cada vez más automatizados, de menor tamaño, menos complejos y bajando los costes para que de esta forma sea más factible la migración de grandes instalaciones donde se remitían la mayoría de pruebas diagnósticas a instalaciones mucho mas pequeñas, como en las clínicas veterinarias. Esta tendencia, se cree incrementará la capacidad diagnóstica de las clínicas, siempre y cuando se tenga en cuenta sus desventajas, ya que muchas veces los veterinarios no conocen las capacidades y limitaciones de los sistemas, dándose un mal uso de los dispositivos y además teniendo en consideración la

necesidad de análisis especializados, siendo así necesario personal con formación y experiencia en ciencias de laboratorio o la remisión a laboratorios externos (Allison y Meinkoth, 2007, pp. 221).

CAPITULO I

1.1. Antecedentes

En la historia, la hematología, se empieza hacer presente por experimentos realizados en sangre humana, conociéndose trabajos científicos como “Memorias para la Historia Natural de la sangre humana” publicado en 1684 por Robert Boyle, quien fue un filósofo natural, químico, físico, inventor y teólogo cristiano en Londres (Acott, 1999).

Se podría nombrar a una gran cantidad de científicos que aportaron en la historia para los avances de la hematología, a quienes les debemos los conocimientos y la tecnología con la que contamos en la actualidad.

En la actualidad la necesidad en el estudio de la medicina veterinaria obliga al clínico a utilizar métodos de diagnóstico que ayuden a la determinación de las patologías de sus pacientes. Dentro de todas las especialidades, durante los últimos 20 años, la hematología es una de las áreas con más progreso debido a la mayor participación en procedimientos diagnósticos (DeNicola, 2011). Dicha demanda ha generado el desarrollo de nueva tecnología que mimetice el estudio microscópico realizado por el hematólogo con el fin de optimizar recursos y efectivizar procesos. Las técnicas modernas de identificación de elementos sanguíneos en medicina veterinaria son tecnológicamente comparables a aquellas en medicina humana (Stirn, Moritz, & Bauer, 2014, p. 12). Sin embargo la aplicación tecnológica es comparable pero no competitiva con la especificidad de determinación del ojo humano. Es por esto que constantemente se desarrollan nuevas técnicas de elaboración de procesos y de identificación de parámetros y junto con esto es necesario la comprobación de la especificidad de dichos resultados automatizados en concordancia con descubrimientos patológicos y nuevas técnicas de diagnóstico.

La hematología es una ciencia aplicable a todas las especies, mayormente utilizada en la clínica de especies menores y equinos. Es una herramienta imprescindible en todo laboratorio de referencia y en la actualidad cada vez más, presente como pruebas de gabinete realizadas en las clínicas veterinarias. Y por ende es clasificada como una de las mejores herramientas y de mejor medición de impacto de la enfermedad en el animal (Schalm, 1962, p. 3).

1.2. Alcance

El estudio comprende áreas de desarrollo experimental, diagnóstico y en el uso diario en laboratorios de referencia, clínicas y hospitales veterinarios. Presenta una alternativa de conocimiento para procesos de evaluación de los resultados de procesos automatizados y para la valoración de procedimientos manuales. Junto con esto, la concientización de la necesidad de la evaluación del hemograma por personal especializado, crítico y de manera exhaustiva con el fin de maximizar la especificidad en el resultado emitido.

De la mano con esto, procede una mejora en la calidad del profesional en nuestro medio y por ende un mejor servicio a los pacientes. Ya que ayuda a determinar procesos y medir la eficiencia de resultados emitidos. Los mismos que han sido identificados como probablemente erróneos hasta en 90% de estudios específicos en ensayos experimentales a falta de precisión en la medición de parámetros (Freeman & Gruenwaldt, 1999).

1.3. Justificación

El proceso automatizado ha sido desarrollado con tecnología que permite identificar los parámetros más evidentes en el hemograma. Sin embargo, existen muchos parámetros cualitativos de gran importancia para el diagnóstico clínico que no pueden ser identificados por el contador hematológico automatizado.

Así mismo existen mediciones cuantitativas de parámetros sanguíneos que deben ser analizados de manera lógica y en algunos de los casos corregidos en su resultado. En enfermedades ligadas a mielo-supresión o infecciones crónicas subclínicas, dichos elementos son de primordial importancia y exigen una identificación de alta especificidad (Brunck, Andersen, Timmins, Osborne, & Nielsen, 2014).

Adicional a esto la automatización no puede identificar elementos subjetivos o adicionales no constantes en todas las muestras.

El propósito del estudio es hacer notar la importancia de ciertos elementos sanguíneos y evidenciar ante el clínico la necesidad de saber identificar factores relevantes, y por ende denotar la justificación de los procesos manuales especializados para el correcto diagnóstico.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General

Determinar cuantitativa y cualitativamente las poblaciones de leucocitos, por medio de conteo manual y automatizado.

1.4.2. Objetivos específicos

- a. Identificar celularidad nucleada mediante el hemograma automatizado y manual.
- b. Analizar la integridad de los leucocitos por medio de microscopía de frotis sanguíneo.
- c. Determinar el porcentaje de hemogramas que presentan alteraciones microscópicas no valoradas por medio del hemograma automatizado.
- d. Valorar la asociación de las alteraciones sanguíneas en el frotis, en relación a los hallazgos del hemograma automatizado.
- e. Correlacionar la sensibilidad y especificidad de hallazgos en el hemograma automatizado con aquellos del hemograma de microscopía manual.

CAPITULO II

2.1. Marco Teórico

El leucograma es una de las partes del hemograma completo, el cual se refiere al conteo total de leucocitos o glóbulos blancos y su diferenciación; Es considerado el examen de “cajón” en el estudio completo de un paciente, lo que ha hecho que sea solicitado por los clínicos veterinarios cada vez con mas frecuencia.

El constante desarrollo de conocimientos en el ámbito de la medicina veterinaria ha obligado a la creación de una demanda sostenible y a la par del uso de la hematología como una herramienta de soporte en la identificación de cualquier tipo de patología. Es tan creciente el uso de procesos hematológicos en la clínica diaria que ha exigido el desarrollo inminente de métodos automatizados.

El descubrimiento de nuevas patologías, la diversificación de las áreas dentro de la veterinaria, el creciente número de profesionales, clínicas veterinarias y laboratorios de referencia ha posicionado el hemograma como uno de los métodos más esenciales y comunes en el ejercicio; tanto así que en nuestro medio este progreso ha traído consigo la implantación de tecnología de punta y el uso más frecuente de dichos procesos automatizados. Sin embargo, existen todavía muchas falencias en el diagnóstico de la práctica diaria y dentro de estas, la automatización hematológica podría estar arrojando resultados no confiables debido a la falta de especificidad en los procesos del mismo (Becker, Moritz, & Giger, 2008, P.9).

La exactitud del diagnóstico clínico esta siendo comprometida debido a la variación en la sensibilidad y especificidad de los procesos hematológicos.

La variación del porcentaje de precisión en el conteo de leucocitos ha llegado a tener variancias mayor al 12% (Becker et al., 2008, p. 12).

2.1.1. Muestras

Para que una muestra sanguínea tenga un valor diagnóstico debe ser perfectamente recolectada, almacenada y manejada.

La composición de la sangre cambia constantemente y manifiesta respuestas rápidas a fenómenos fisiológicos a los que son sometidos los pacientes, como es el estrés que muchos animales manifiestan al momento de la toma de muestra. Como ejemplo la neutrofilia en gatos por marginación de los neutrófilos y un incremento en el hematocrito por contracción esplénica en perros, son las consecuencias del estrés que puede confundir la interpretación real del examen hematológico (Day, M., Mackin A. y Littlewood J., 2012, p.3).

La mayor parte de los problemas que ocasionan una mala muestra se debe a los daños físicos sobre los componentes de la sangre durante la recogida. Hay que considerar la fragilidad de los eritrocitos y la agregabilidad de plaquetas (Day, M., Mackin A. y Littlewood J., 2012, p.4). Los mismos que son la razón para la hemólisis y los agregados plaquetarios resultado de un vacío excesivo, llenado incorrecto del tubo, shock térmico, entre otros.

2.1.1.1. Recolección

2.1.1.1.1 Materiales para la recolección

Para la recolección de muestras para análisis hematológicos se debe utilizar los materiales específicos para que la muestra sea útil.

- **Tubos**

El tubo de elección para análisis hematológico es el de tapón lila, este tubo contiene ácido etilendiaminotetracético o EDTA.

El EDTA es el anticoagulante de elección en la hematología, actúa como quelante del calcio impidiendo la coagulación de la sangre. Es el anticoagulante exógeno por excelencia ya que cumple con varios parámetros para ser un buen anticoagulante, ya que no altera la morfología eritrocitaria ni leucocitaria, inhibe la aglutinación de plaquetas, asegura la conservación de elementos durante 24 horas si las muestras son conservadas a 4°C. Además se lo prefiere porque no interfiere con la tinción permitiendo que las células se tiñan apropiadamente e inhibe la proliferación de bacterias (Allison y Meinkoth, 2007, pp. 207).

Los tubos de tapón lila se los encuentra en varios tamaños y cada uno viene ya con la concentración indicada correspondiente a la capacidad del volumen del tubo. Es importante respetar la relación sangre-anticoagulante, ya que el exceso de EDTA puede diluir la muestra, alterando el valor del hematocrito y causando alteraciones en la morfología celular.

- **Jeringas y Agujas**

En la práctica veterinaria de pequeñas especies se utiliza preferentemente las jeringas al contrario que en especies mayores en las que se utiliza el vacutainer al vacío.

Para muestras destinadas a hematología se prefiere trabajar con jeringas de 3 ml, 5 ml o 10 ml, siempre teniendo cuidado de no emplear un vacío excesivo que pueda dañar la muestra.

Las agujas más utilizadas son las de 23 G y 21 G, la elección se dará dependiente de las características del paciente.

2.1.1.1.2. Sitios de venopunción

Los sitios mas frecuentes de venopunción en perros son vena yugular, vena cefálica y vena safena, que queda a consideración del médico veterinario cual utilizar dependiendo de las condiciones del paciente, siendo la vena yugular siempre la de preferencia para estudios hematológicos.

- **Vena Yugular Externa**

La vena yugular externa se localiza en ambos lados del cuello, formada por la unión de las venas maxilar y linguofacial (Miller, M., 1972, p.102).

Se coloca al perro en decúbito esternal o sentado; en perros pequeños se sujeta las extremidades anteriores hacia abajo del borde de la mesa, se estira

el cuello hacia atrás y se gira la cabeza. Se puede o no rasurar el área, esto dependerá de las características del paciente. El médico que va a tomar la muestra ocluye la vena craneal a la entrada del tórax.

- **Vena Cefálica**

La vena cefálica comienza en el lado palmar de la mano a partir del arco venoso palmar superficial y recibe la unión de la vena cefálica accesoria en la cara anterior del tercio distal del antebrazo y nace de pequeñas venas en el dorso de la mano (Miller, M., 1972, p.135).

Se coloca al perro en decúbito esternal, con una mano se sujeta la cabeza y el cuello del animal girándolo ligeramente para que no obstaculice la visibilidad, y con la otra mano se toma la articulación del codo para extender el antebrazo del perro y realizar el torniquete con el dedo pulgar exponiendo la vena hacia el exterior.

- **Vena Safena**

En el perro la vena safena lateral es la de mayor tamaño y por lo tanto la que se prefiere para venopunción. Tanto la vena safena lateral como la medial se forman a partir de una rama craneal y caudal en la articulación del tarso, sitio donde se comunican con las venas profundas del metatarso. Ambas ramas se unen aproximadamente a la altura del tercio medio de la pierna, en un caso en la cara lateral y en el otro en la medial (König, H., 2008, p.186).

Se coloca al animal en posición decúbito lateral, a espaldas del perro se sujeta con una mano las patas delanteras y con la otra la pata trasera haciendo torniquete para exponer la vena.

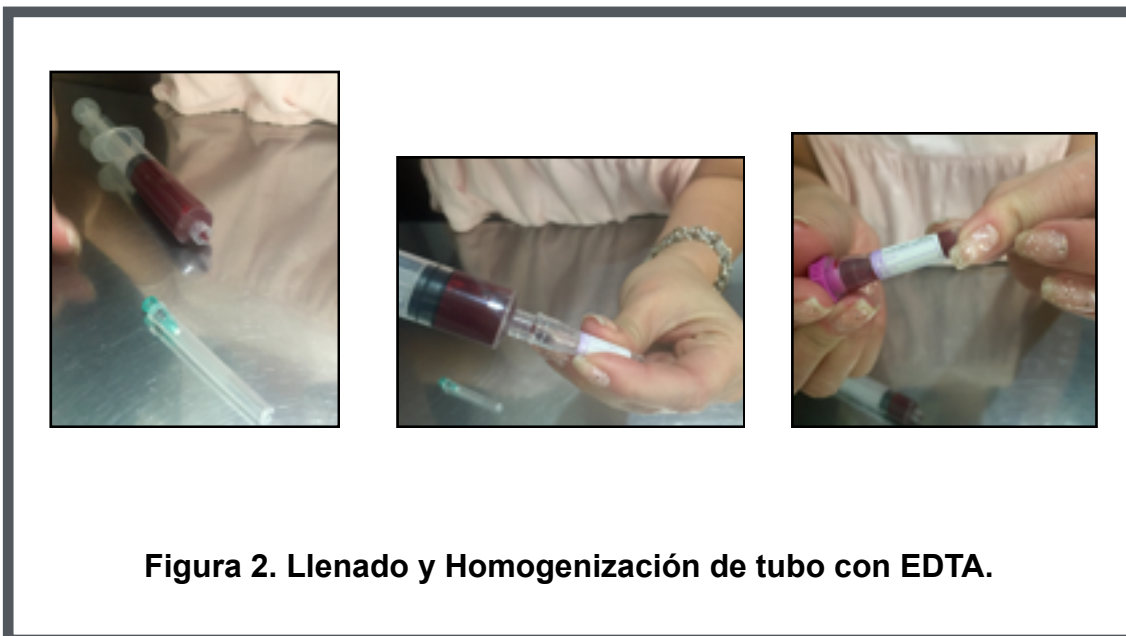
2.1.1.2. Manejo

El resultado del análisis hematológico depende de algunos factores y entre ellos esta el manejo de la muestra. Una vez que esta seleccionado el sitio de punción de acuerdo con las características del paciente, se elige el calibre de la aguja y el volumen de la jeringa.

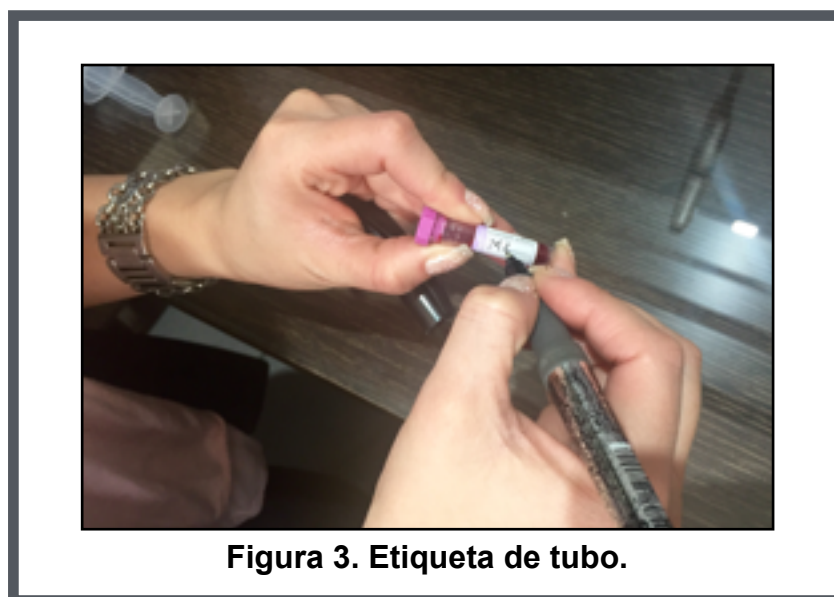


Figura 1. Toma de muestra sanguínea en vena yugular.

Una vez obtenida la muestra se desacopla la aguja de la jeringa, y suavemente se pasa la sangre por las paredes del tubo, se llena adecuadamente de acuerdo la capacidad del tubo y se homogeniza breve y suavemente, sin agitar.



Se debe etiquetar todas las muestras obtenidas, para de esta forma evitar confusiones.



Las muestras se deben homogenizar al menos 10 minutos antes de empezar el análisis.



Figura 4. Homogenizador sanguíneo.

Para el hemograma, el frotis se debe confeccionar inmediatamente y la sangre debería ser analizada cuantitativamente antes de una hora de su obtención, en caso de que no se pueda analizar rápidamente se debe refrigerar la sangre a 4°C durante un día. La sangre entera no se debe congelar, ni estar en contacto con hielo (Cerón, J., 2013, p. 23).

2.1.1.2.1. Contador Hematológico Automatizado

Actualmente se puede encontrar en el mercado algunos tipos de contadores hematológicos automáticos, lo que los diferencia es el método que utilizan.

2.1.1.2.1.1. Fundamentos y tecnología

2.1.1.2.1.1.1. Impedancia

Analizadores de Impedancia o método de Coulter emplean el principio de “Coulter” para analizar las células individuales. El principio se basa en que las células son conductores eléctricos relativamente pobres cuando están rodeados por una solución electrolítica conductora. Hay electrodos presentes en ambos lados de una apertura en la que hay una corriente eléctrica, a través de la cual pasan las células individuales. A medida que pasa cada célula se mide el cambio de voltaje, el cual proporciona un cálculo del volumen de cada célula. El número de cambios de voltaje indica la cifra celular y la magnitud del cambio nos da el tamaño celular (Allison, R. y Meinkoth, J., 2007, p.223).

Se configuran valores para cada especie, de esta forma se excluyen células y restos celulares que se encuentre fuera del rango de tamaño. Los sistemas emplean una cantidad y una dilución exacta de la muestra y así pueden determinar la concentración (Allison, R. y Meinkoth, J., 2007, p.224).

Se aplica el mismo principio tanto para eritrocitos como para leucocitos. El diferencial de leucocitos se da mediante un proceso de eliminación. La muestra se trata con reactivos que lisan ciertos tipos de leucocitos, siendo el diluyente alcalino el que lizará y anucleará los neutrófilos, monocitos y linfocitos, dejando intactos a los eosinófilos debido a la estabilidad de sus gránulos en el medio alcalino, realizando luego el recuento de la muestra rica en eosinófilos (Day, M., Mackin A. y Littlewood J., 2012, p. 7).

Este método tiene algunas complicaciones, como por ejemplo en el valor de hematocrito por ser calculado difiere con el valor medido mediante el microhematocrito. También se ven errores en el conteo de eritrocitos de

diferentes tamaños, al identificar células a partir de umbrales electrónicos que dependen del tamaño celular (Day, M., Mackin A. y Littlewood J., 2012, p. 7).

2.1.1.2.1.1.2. Análisis cuantitativo de Buffy Coat

Sistema de centrifugación, mas conocido como QBC (quantitative buffy coat), se basa en el principio de que los eritrocitos, leucocitos y plaquetas tras la centrifugación se dispondrán en capas acorde con sus densidades (Day, M., Mackin A. y Littlewood J., 2012, p. 8).

Se emplea un tubo similar a un capilar de microhematocrito agrandado, que contiene un flotador cilíndrico que expande el buffy coat. El tubo se coloca en un lector y mediante sus patrones teñidos con naranja acridina son identificadas al observarse bajo luz azul-violeta (Allison, R. y Meinkoth, J., 2007, p.223).

En algunos casos como en la leucocitosis, no se puede diferenciar entre la capa de granulocitos y eritrocitos por lo que no se puede contar leucocitos. Este sistema no puede detectar desviaciones a la izquierda, anormalidades morfológicas de leucocitos o morfología de eritrocitos. Por lo que es necesaria la valoración de extensiones sanguíneas (Day, M., Mackin A. y Littlewood J., 2012, p. 8).

2.1.1.2.1.1.3. Citometria de Flujo

Son contadores que usan un sistema de detección de láser electrónico-óptico para medir el tamaño y la complejidad interna de cada célula, en base a la dispersión de la luz (Day, M., Mackin A. y Littlewood J., 2012, p. 8). Consta de

un fluido que contiene la muestra en suspensión y otro que la envuelve, las células pasan por la fuente de luz en “fila india” y la luz se desvía según el tamaño y la composición interna de cada célula (Allison, R. y Meinkoth, J., 2007, p.224).

Este método aporta mas información ya que mide el tamaño y la concentración de hemoglobina de cada eritrocito, en lugar de aportar un valor de la media (Day, M., Mackin A. y Littlewood J., 2012, p. 8). La ventaja principal del método es en el recuento diferencial de leucocitos en 5 partes, por obtener el tamaño y características citoplasmáticas de las células, como el contenido de peroxidasas en los gránulos, lo que significa un problema en la veterinaria cuando se valoran leucocitos de diferentes especies debido al contenido variable de peroxidasas. Esta es la razón por la que la mayoría de laboratorios veterinarios siguen analizando diferenciales microscópicos en todas las muestras (Allison, R. y Meinkoth, J., 2007, p.225).

2.1.1.2.2. Conteo manual de Leucocitos

2.1.1.2.2.1. Pipeta de Thoma

El conteo manual de leucocitos se realiza mediante pipetas de Thoma, que se va a describir a continuación:

- 1) Se llena de sangre hasta la marca de 0,5 y el resto con solución de Turk hasta la marca de 11, absorbiendo desde una manguera conectada a un extremo de la pipeta, esto nos resulta en una dilución de 1:20.

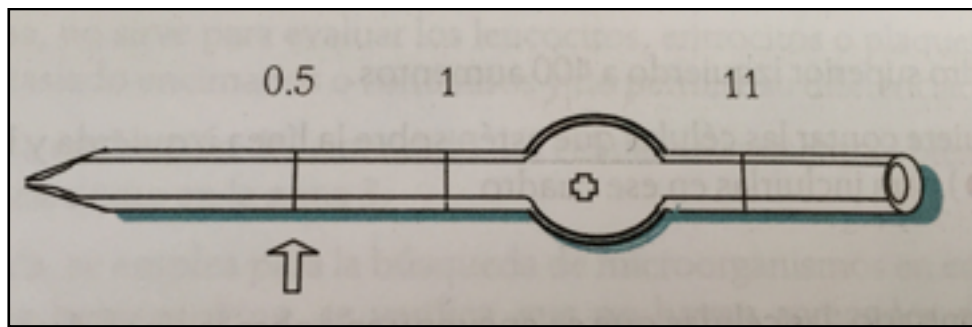


Figura 5. Pipeta de Thoma para leucocitos.

Tomado de: NUÑES, "PATOLOGÍA CLINICA VETERINARIA", 2007

- 2) Se mezcla por unos minutos evitando que se derrame el líquido de la pipeta.
- 3) Mezclado perfectamente se eliminan tres gotas y se procede a llenar el hemocitómetro o cámara de Neubauer (Núñez, L. y Bouda, J., 2007, p. 55).

2.1.1.2.2.2. Cámara de Neubauer

- 1) El cubreobjetos es especial, ya que tiene un mayor espesor, debe estar limpio y se lo coloca sobre las barras humedecidas.
- 2) Se deja reposar unos minutos para que se sedimenten las células, antes de empezar el conteo (Núñez, L. y Bouda, J., 2007, p. 55).

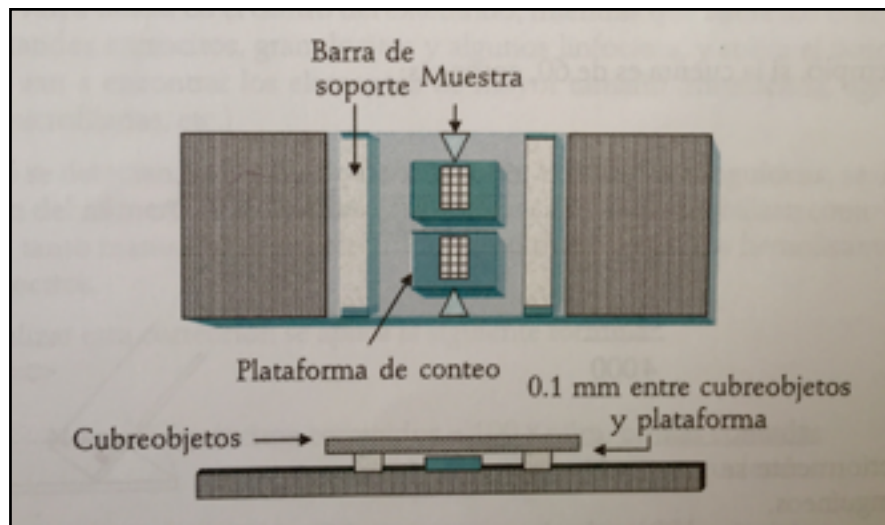


Figura 6. Cámara de Neubauer.

Tomado de: NUÑES, "PATOLOGÍA CLINICA VETERINARIA", 2007

- 3) La plataforma de conteo tiene nueve grandes cuadros con diferentes números de divisiones. Para el conteo de leucocitos se toman los cuatro extremos que tienen 16 cuadros pequeños.

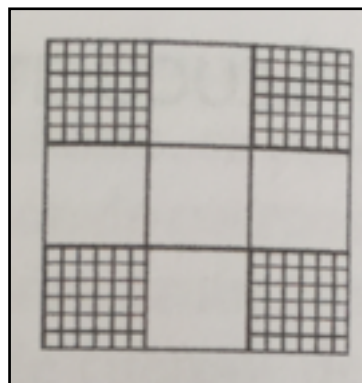
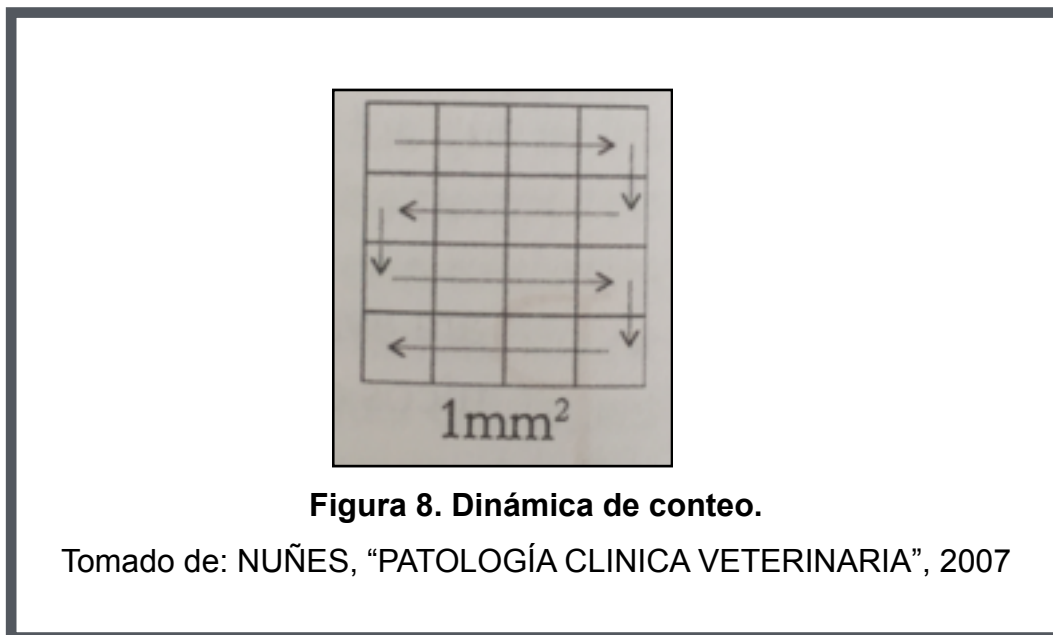


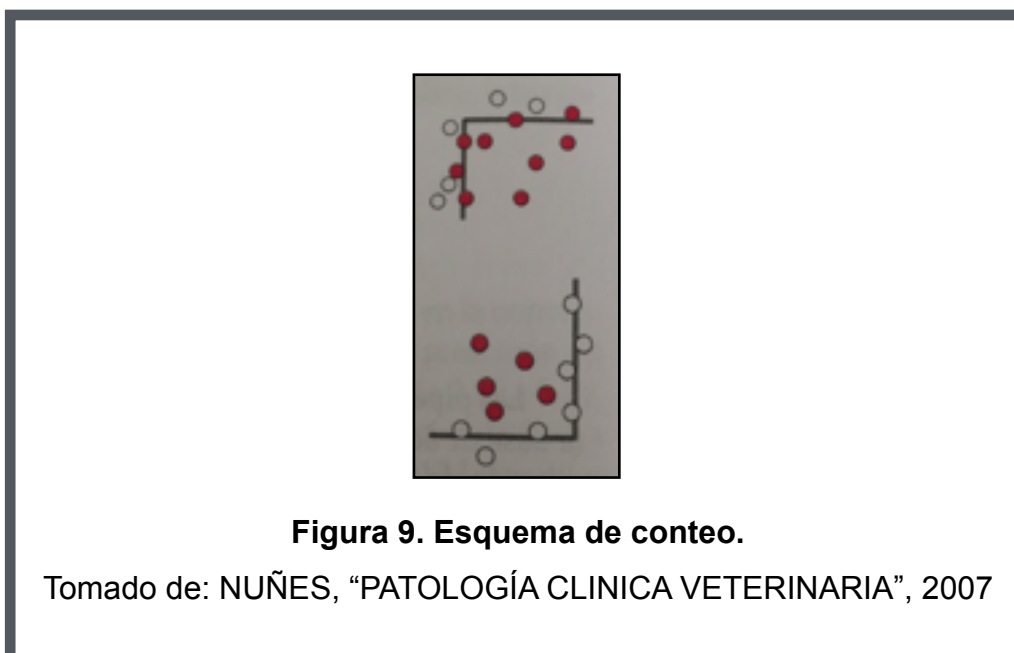
Figura 7. Plataforma de cámara de Neubauer.

Tomado de: NUÑES, "PATOLOGÍA CLINICA VETERINARIA", 2007

4) El conteo se realiza de izquierda a derecha



5) Se cuentan las células que estén sobre la línea izquierda y la línea superior, pero no se cuentan las que se encuentren sobre la línea derecha o la línea inferior. La diferencia del conteo entre cuadros no debe ser superior a 25% (Núñez, L. y Bouda, J., 2007, p. 56).



6) Cuando se tiene la cuenta final se aplica la siguiente formula:

$$\frac{\text{Número de células contadas} \times \text{dilución} \times \text{distancia entre plataforma y cubreobjetos}}{\text{Número de cuadros de } 1 \text{ mm}^3 \times 1000}$$

Figura 10. Fórmula para calcular conteo total de leucocitos.

Tomado de: NUÑES, "PATOLOGÍA CLINICA VETERINARIA", 2007

2.1.1.2.2.3. Diferencial de Leucocitos

1) Se confecciona una extensión sanguínea, empleando portaobjetos limpios.

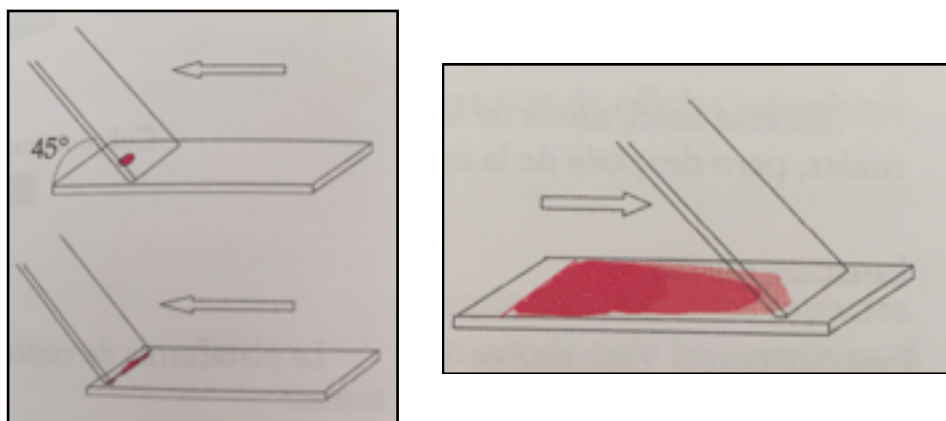


Figura 11. Confección de frotis sanguíneo.

Tomado de: NUÑES, "PATOLOGÍA CLINICA VETERINARIA", 2007

- 2) Una vez confeccionado el frotis se lo tiñe con tinción Romanowsky (Wright, Diff-Quick).



Figura 12. Tinción de Wright

- 3) El diferencial se realiza en la monocapa (zona 2) observando a 1000x con aceite de inmersión y se empieza en guardia griega hasta contar 100 leucocitos, contabilizándolas en el piano contador de células. Diferenciándolos entre neutrófilos, bandas, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos (Núñez, L. y Bouda, J., 2007, p. 57).

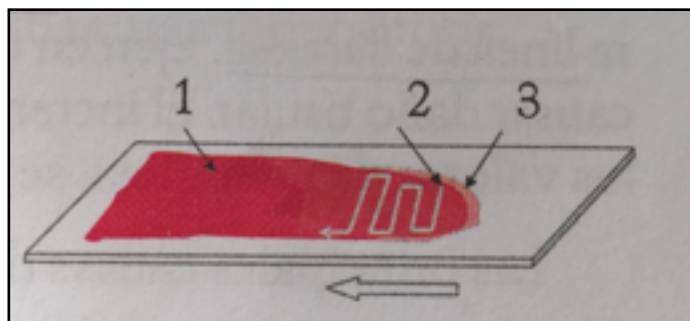


Figura 13. Método para realizar el diferencial de leucocitos.

Tomado de: NUÑES, "PATOLOGÍA CLINICA VETERINARIA", 2007

2.1.1.2.2.3.1. Morfología

a. Neutrófilos Tóxicos

Los cambios tóxicos en neutrófilos son probablemente las alteraciones más comunes de leucocitos encontrados en un frotis sanguíneo. Este cambio celular es el resultado de una granulopoyesis aberrante e indica un efecto inflamatorio sistémico en médula ósea. Se puede encontrar en animales con sepsis, endotoxemia o necrosis tisular (Cowell, R., Tyler, R., Meinkoth, J., DeNicola, D., 2007, p. 410).

Entre los cambios tóxicos en neutrofilos tenemos:

- **Cuerpos de Döhle:** Son los cambios en neutrófilos de la forma más leve de toxicidad, en perros siempre indican inflamación sistémica. Se observan parches grises en el citoplasma del neutrófilo (Cowell, R., Tyler, R., Meinkoth, J., DeNicola, D., 2007, p. 410).

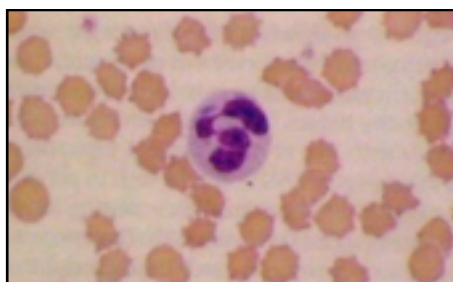


Figura 14. Cuerpo de Döhle en neutrófilo tóxico.

Tomado de: COWELL, "DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO Y HEMATOLÓGICO DEL PERRO Y GATO", 2007

- **Basofilia citoplasmática difusa:** Es un indicador de toxicidad más severa, aparece el citoplasma punteado de azul a morado, puede observarse tanto en bandas como en neutrófilos maduros (Cowell, R., Tyler, R., Meinkoth, J., DeNicola, D., 2007, p. 410).



Figura 15. Basofilia citoplasmática en neutrófilo tóxico.

Tomado de: COWELL, "DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO Y HEMATOLÓGICO DEL PERRO Y GATO", 2007

- **Granulación citoplasmática rojiza o metacromática:** Es un hallazgo poco común que ocurre en severas granulopoyesis aberrantes. Se observa pequeños gránulos rojos rosas dispersos (Cowell, R., Tyler, R., Meinkoth, J., DeNicola, D., 2007, p. 410).



Figura 16. Neutrófilo tóxico canino con granulación eosinofílica.

Tomado de: COWELL, "DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO Y HEMATOLÓGICO DEL PERRO Y GATO", 2007

- **Citoplasma espumoso vacuolizado:** Es un indicador de una severa toxicidad sistémica y se considera el resultado de una formación anormal de lisosomas y la liberación intracelular de enzimas autolizantes. Se observa el citoplasma con una apariencia de burbujas de jabón (Cowell, R., Tyler, R., Meinkoth, J., DeNicola, D., 2007, p. 410).

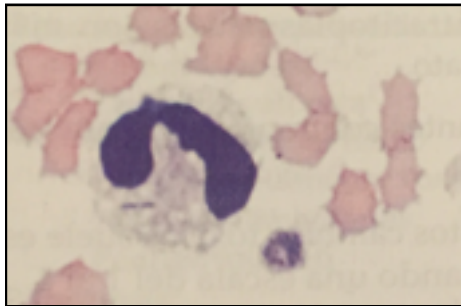


Figura 17. Neutrófilos tóxico con citoplasma vacuolado.

Tomado de: DAY, "HEMATOLOGÍA Y TRANSFUSIÓN EN PEQUEÑOS ANIMALES", 2012

- **Neutrófilos gigantes:** Representan divisiones mitóticas omitidas o el rápido desarrollo de las células precursoras de neutrófilos. Son similares en apariencia que las bandas o neutrófilos tóxicos pero el doble de grandes. (Cowell, R., Tyler, R., Meinkoth, J., DeNicola, D., 2007, p. 411).

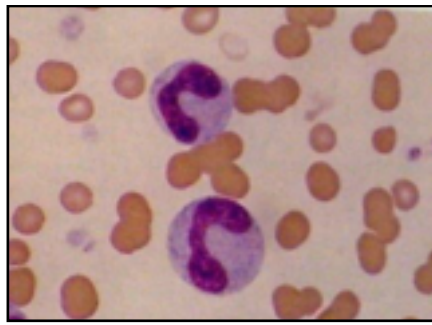


Figura 18. Neutrófilo tóxico gigante.

Tomado de: COWELL, "DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO Y HEMATOLÓGICO DEL PERRO Y GATO", 2007

- **Núcleos en anillo:** Es el signo de toxicidad sistémica extrema y son asociadas a sepsis. Es importante al evaluarlas no confundir extremos nucleares superpuesto con núcleos en anillo (Cowell, R., Tyler, R., Meinkoth, J., DeNicola, D., 2007, p. 411).



Figura 19. Neutrófilo tóxico en anillo.

Tomado de: COWELL, "DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO Y HEMATOLÓGICO DEL PERRO Y GATO", 2007

b. Neutrófilos en Banda

El número aumentado de neutrófilos en banda indican desviación a la izquierda, lo que define un leucograma inflamatorio. La magnitud de la desviación a la izquierda se relaciona con la gravedad de la inflamación (Allison, R. y Meinkoth, J., 2007, p.259).

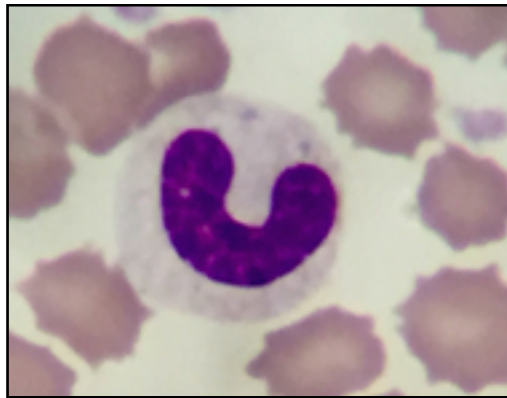


Figura 20. Neutrófilo en Banda.

c. Anomalía de Pelger-Huët

Los animales que presentan esta anomalía tienen incapacidad de segmentar los núcleos de todos los granulocitos. Este trastorno normalmente es heredado, aunque se conocen formas adquiridas. La función granulocítica no está afectada (Allison, R. y Meinkoth, J., 2007, p.259).

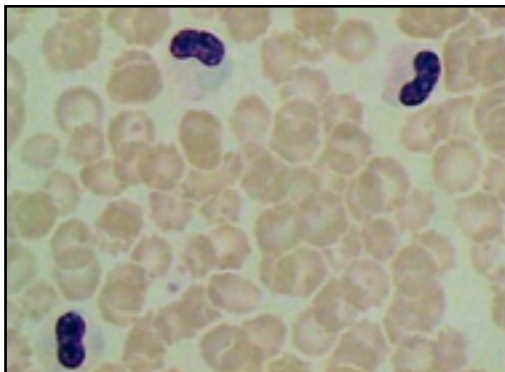


Figura 21. Anomalia de Pelger-Huët.

Tomado de: COWELL, "DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO Y HEMATOLÓGICO DEL PERRO Y GATO", 2007

d. Neutrófilos Hipersegmentados

Neutrófilos hipersegmentados en sangre periférica representan neutrófilos que se han mantenido en circulación por un tiempo extendido en lugar de migrar a tejidos. Se los reconoce por tener de cinco a más segmentos y se encuentran en pacientes con incremento en los niveles de circulación de glucocorticoides exógenos o endógenos, también en animales con neutrofilia marcada asociada a una inflamación crónica (Cowell, R., Tyler, R., Meinkoth, J., DeNicola, D., 2007, p. 411).

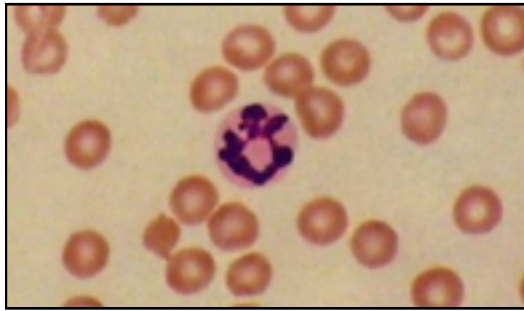


Figura 22. Neutrófilos hipersegmentados en perra un día después de OVH por piometra.

Tomado de: COWELL, "DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO Y HEMATOLÓGICO DEL PERRO Y GATO", 2007

e. Linfocitos Reactivos

Se pueden ver en animales que se someten a estimulación antigénica. Los núcleos pueden estar dentados o curvos, citoplasma azul intenso más abundante, cromatina normal o inmadura y nucleolos ausentes (Allison, R. y Meinkoth, J., 2007, p.261).

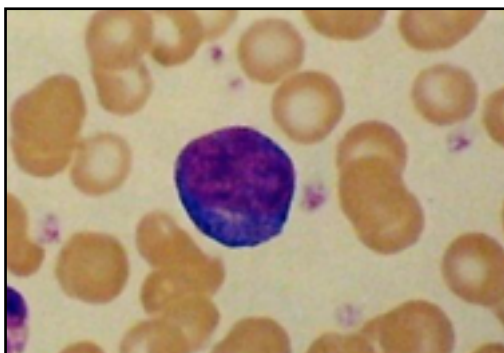


Figura 23. Gran linfocito reactivo.

Tomado: COWELL, "DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO Y HEMATOLÓGICO DEL PERRO Y GATO", 2007

f. Linfocitos Atípicos

Tienen un mayor tamaño que los neutrófilos y contienen núcleos con cromatina punteada inmadura. Cuando se encuentran linfocitos atípicos en gran cantidad sugiere leucemia linfocítica aguda o linfoma en estadio V. Sin embargo, pueden existir en pequeñas cantidades en enfermedades inflamatorias (Allison, R. y Meinkoth, J., 2007, p.261).

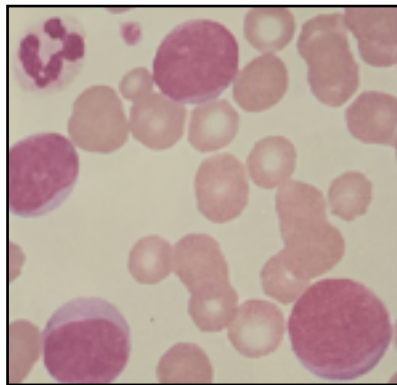


Figura 24. Linfocitos atípicos en un perro con leucemia linfocítica.

Tomado de: ALLISON, "CLINICAS VETERINARIAS DE NORTEAMERICA",
2007

2.1.1.2.2.3.2. Inclusiones

Esporádicamente se observa en un frotis sanguíneo a leucocitos fagocitando materiales, como otras células, restos celulares y organismos infecciosos (Cowell, R., Tyler, R., Meinkoth, J., DeNicola, D., 2007, p. 414).

- a. **Inclusiones del virus de Distemper canino:** Las inclusiones de CDV se pueden observar tanto en leucocitos (Linfocitos, Neutrófilos, Monocitos)

como en eritrocitos. Las inclusiones en linfocitos y monocitos se los puede ver en tamaño variable, discretos, eosinofílicas, redondas u ovals en el citoplasma y en neutrófilos se observan cuerpos mas pequeñas entre eosinofílicos a basofílicos. El hallazgo de cuerpos de inclusión de CDV en sangre periférica de animales infectados es variable, incluso en el mismo paciente va a variar dependiendo en los diferentes estados de la infección. Se ha reportado que se han encontrado más frecuentemente en estadios tempranos de la infección, pero se han podido observar mas raramente durante la fase neurológica de la enfermedad (Cowell, R., Tyler, R., Meinkoth, J., DeNicola, D., 2007, p. 415).



Figura 25. Inclusión de Distemper canino en neutrófilo.

Tomado de: COWELL, "DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO Y HEMATOLÓGICO DEL PERRO Y GATO", 2007

- b. **Mórulas de *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia ewingii* o *Anaplasma phagocytophilum*:** Las mórulas en leucocitos se pueden ver especialmente en caninos que presentan signos clínicos de la enfermedad, como fiebre, trombocitopenia, leucopenia, anemia, linfadenopatía, esplenomegalia, pérdida de peso y/o cojera; perros con infecciones crónicas con *E. canis* pueden además mostrar una pancitopenia severa. Las mórulas de las tres especies (orden Rickettsiales) son similares en su apariencia redondas u ovals, cuerpos eosinofílicos a basofílicos en el citoplasma de las células afectadas, con un microscopio de buena

resolución se puede ver las mórulas compuestas de numerosos diminutos cocos. Mórulas de *E. ewingii* y *A. phagocytophilum* se pueden ver fácilmente en neutrófilos de sangre periférica de perros afectados, al contrario de mórulas de *E. canis* que raramente se observan en linfocitos y monolitos de sangre periférica y solo durante la fase muy temprana de la infección (Cowell, R., Tyler, R., Meinkoth, J., DeNicola, D., 2007, p. 415).



Figura 26.

Mórula de *E. ewingii* en neutrófilo canino.

Fuente: COWELL, "DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO Y HEMATOLÓGICO DEL PERRO Y GATO", 2007

- c. **Gamontes de Hepatozoon:** Raramente se encuentran gamontes en leucocitos de sangre periférica de perros infectados con este organismo. A pesar de que la enfermedad va acompañada de una pronunciada leucocitosis, el organismo se encuentra en muy pocos leucocitos. Con tinción de Wright tienen apariencia acuosa, ovoide, con un único parche eosinofílico a basofilo, son suficientemente grandes para desplazar el núcleo celular y distorsionar los bordes citoplasmáticos (Cowell, R., Tyler, R., Meinkoth, J., DeNicola, D., 2007, p. 415).



Figura 27. *Hepatozoon canis* distorsionando la forma citoplasmática y nuclear de un neutrófilo.

Tomado de: COWELL, "DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO Y HEMATOLÓGICO DEL PERRO Y GATO", 2007

2.1.1.2.2.3.3. Variaciones y Correcciones

- Variaciones:

- a. **Figuras mitóticas:** Son raramente vistas en frotis sanguíneos. Cuando se las encuentran se observan en los bordes del frotis y son parte de la población de células leucémicas. Este hallazgo en frotis de animales no leucémicos se asocia comúnmente a linfocitosis reactiva (Cowell, R., Tyler, R., Meinkoth, J., DeNicola, D., 2007, p. 414).

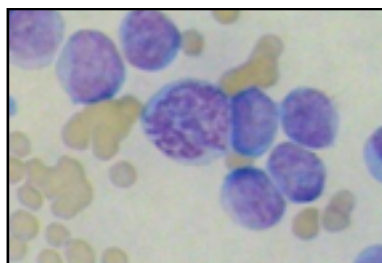


Figura 28. Gran figura mitótica en paciente leucémico.

Tomado de: COWELL, "DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO Y HEMATOLÓGICO DEL PERRO Y GATO", 2007

- b. **Mastocitos:** Este hallazgo en sangre periférica se da en animales con mastocitosis sistémica y en poco número en perros con una pronunciada inflamación, anemia regenerativa, trauma o en neoplasia que no sean mastocíticas (Cowell, R., Tyler, R., Meinkoth, J., DeNicola, D., 2007, p. 414).

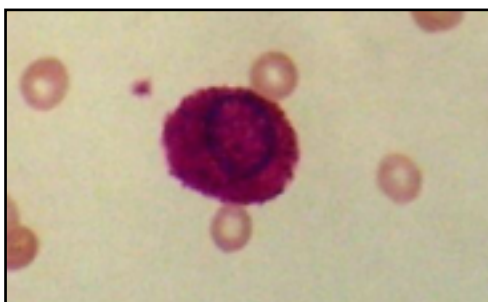


Figura 29. Mastocitemia en paciente con mastocitoma esplénico.

Tomado de: COWELL, "DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO Y HEMATOLÓGICO DEL PERRO Y GATO", 2007

- **Correcciones:**

Cuando se detectan más de tres eritrocitos nucleados en diferencial de 100 células en el frotis sanguíneo, se debe hacer la corrección del número de leucocitos, ya que estas células son contabilizadas con leucocitos, tanto en el método manual como en el automático, porque resisten a los hemolisantes al igual que los leucocitos (Núñez, L. y Bouda, J., 2007, p. 57).

Se aplica la siguiente fórmula:

$$\text{Núm. de leucocitos corregidos} = \frac{100 \times \text{núm. células contadas}}{100 + \text{eritrocitos nucleados}}$$

Figura 30. Fórmula para corrección de Leucocitos.

Tomado de: NUÑES, "PATOLOGÍA CLINICA VETERINARIA", 2007

CAPITULO III

3.1. Materiales

3.1.1. Biológicos

- a. 384 Caninos
- b. Sangre Venosa Periférica

3.1.2. No Biológicos

- a. Jeringas 3ml
- b. Torundas del algodón
- c. Tubo de recolección sanguínea con EDTA de 1ml.
- d. Cubreobjetos de cámara
- e. Cámara de Neubauer
- f. Microscopio
- g. Piano Contador Celular
- h. Pipeta de Thoma
- i. Solución de Turk
- j. Manguera
- k. Tinción de Wright
- l. Homogenizador de sangre
- m. Aceite de Inmersión
- n. Analizador Hematológico Automático
- o. Portaobjetos
- p. Agua destilada
- q. Cronómetro

3.2. Métodos

La recolección de sangre se realizará con una jeringa de 3 ml, aguja calibre 23 G a través de la vena yugular. La sangre recolectada será colocada en un tubo minicollect de 1 ml con EDTA y posteriormente colocada en el homogenizador hematológico por un periodo mínimo de 10 minutos hasta que la muestra sea procesada en un periodo máximo de 4 horas post extracción (Bellwood, B., et. Al. 2014).

El procesamiento de la muestra en el analizador automático de hematología requiere únicamente 20 microlitros de sangre que serán proporcionados directamente desde el tubo minicollect hacia el tubo aspirador en el equipo.

El frotis sanguíneo se realizará por medio de la recolección de sangre con un capilar desde el tubo minicollect y colocando de una gota de 2-3 mm en la porción central de un extremo de un portaobjetos. Con un segundo porta objetos se extiende para crear el frotis, haciendo contacto con la gota de sangre en el extremo del cubre objetos y creando un ángulo de 30 grados sobre la superficie para luego deslizar hacia el extremo opuesto y crear una figura simétrica de bala obteniendo una “monocapa” adecuada (Bellwood, B., et. Al. 2014).

Una vez realizado el frotis se procederá a realizar una tinción de tipo Romanowsky, tintura de Wright (Bellwood, B., et. Al. 2014). El protocolo será de 3 minutos de solución pura y luego 3 minutos de agua destilada estéril como solución buffer. Luego se procederá al lavado de la misma con agua corriente. Se dejará secar al aire por 3 minutos y luego se procederá a hacer la evaluación microscópica del mismo en la monocapa. En dicho frotis se

determinará el diferencial de glóbulos blancos con las respectivas anomalías que pudiesen presentar (Cabezas, P. 2014).

El conteo manual de glóbulos blancos se determinará por medio de conteo en cámara de Neubauer en sus respectivas áreas, periféricas para glóbulos blancos. Esto mediante la dilución resultante en la pipeta de Thoma para células blancas, que se realiza con solución de Turk y sangre (Bellwood, B., et. Al. 2014).

La correlación y análisis de los resultados obtenidos se evaluarán con técnicas de correlación de Pearson y Wilcoxon Test.

3.3. Diseño Experimental

La toma de muestra y procedimientos se realizará en el Ecuador, región sierra en la provincia de Pichincha, ciudad de Quito; en una clínica veterinaria de dicha ciudad.

La investigación se llevará a cabo en un total de 384 muestras de sangre de caninos que sean llevados a atención médica. Se utilizará un analizador de hematología automática con los principios de impedancia para la identificación de células sanguíneas. El análisis hematológico manual será realizado por medio de métodos convencionales de microscopía.

3.4 Manejo del Experimento

- ANIMALES MUESTREADOS

En el experimento se incluyó solo muestras sanguíneas de caninos.

SEXO: Machos y Hembras

EDAD: De 1 mes hasta 16 años

RAZA: Sin excepción

- CONTADOR AUTOMATICO

El contador Hematológico que se utilizó para el experimento fue un Abaxis VetScan HM5. Las muestras se colocaron en tubos con EDTA minicollect de 1 ml y se procesaron con una homogenización previa de mínimo 10 minutos.



Figura 31. Homogenizador sanguíneo.

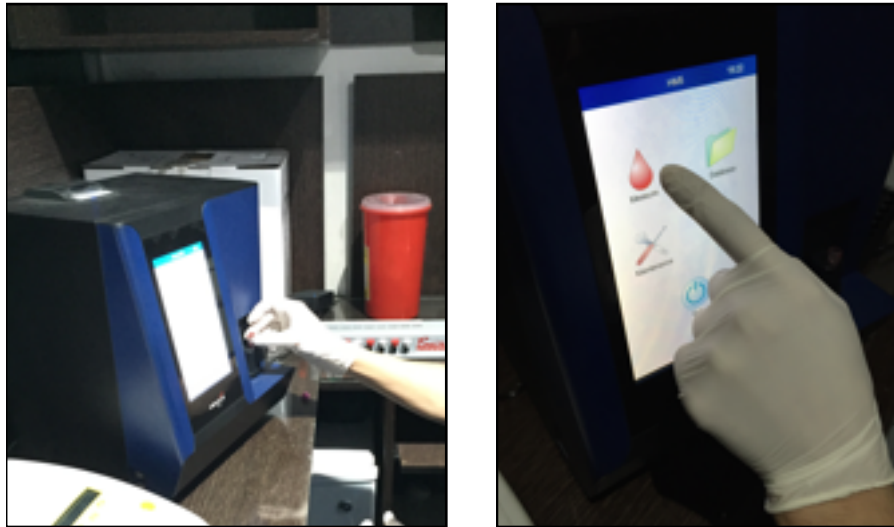


Figura 32. Contador Hematológico Automático, Abaxis VetScan HM5.

COMO FUNCIONA

Produce recuentos de células precisos basados en la tecnología de impedancia.

Proporciona un análisis CBC 22 parámetros, incluyendo un diferencial WBC en 5 partes y cuatro histogramas celulares. (Anexo 1)

TECNOLOGÍA IMPEDANCIA

- Tecnología considerada confiable para el recuento de células que ha sido utilizado en los instrumentos de diagnóstico humano. (Anexo 2)
- Las células sanguíneas pasan a través de una abertura cargado eléctricamente generando un "pulso".
- Los recuentos de células se determinan por el número de impulsos medidos en un volumen dado de sangre durante un período determinado de tiempo.
- La disminución de la conductancia eléctrica (grado de intensidad) medida es directamente proporcional al volumen celular.

- Esta discriminación de tamaño junto con la susceptibilidad a varios agentes de lisis distingue los tipos celulares básicos (rojo, blanco, y plaquetas). (Anexo 3)

DETERMINACION DE HEMOGLOBINA

La hemoglobina se mide a través de una lectura espectrofotométrica. (Abaxis s.f)

- CONTEO MANUAL

El conteo total de Leucocitos se realizó mediante el método convencional, considerando la correcta recolección y manejo de las muestras.

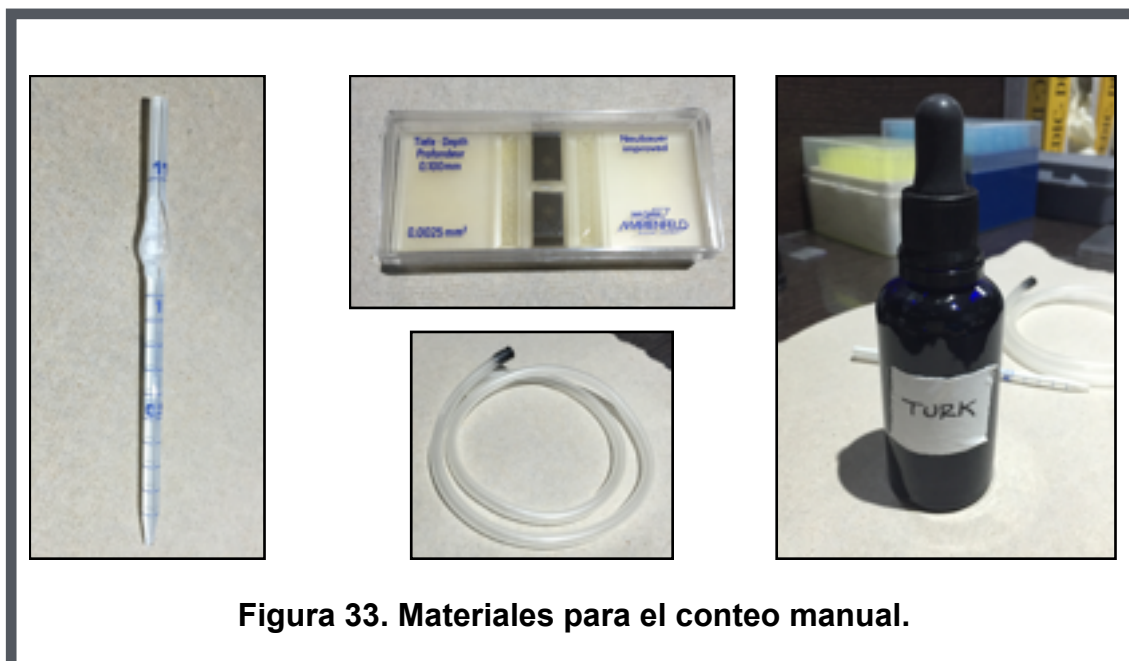


Figura 33. Materiales para el conteo manual.

Luego de que la muestra se homogenice mínimo 10 minutos, se procede a aspirar la sangre directamente del tubo minicollect con la pipeta de Thoma

hasta 0.5, luego se limpia la punta y el resto se completa con solución de Turk hasta la marca del 11.

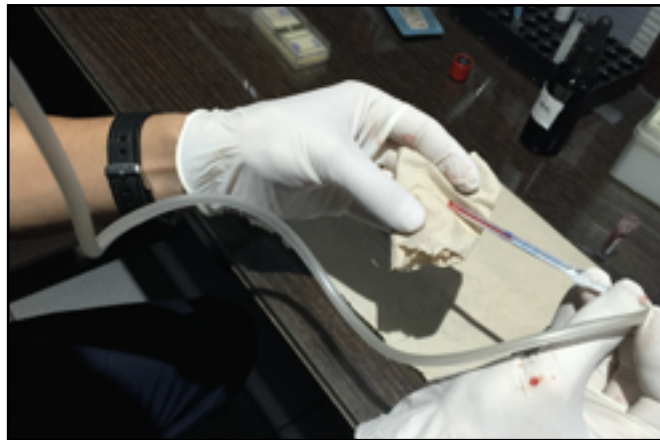


Figura 34. Llenado y limpieza de sangre en la pipeta de Thoma.

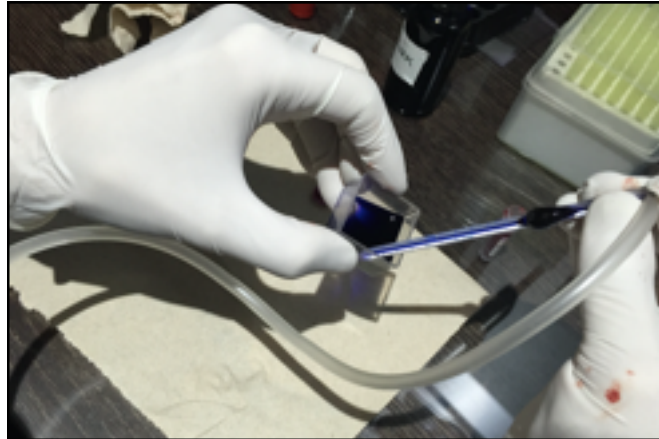


Figura 35. Llenado con la solución de Turk.

Se desconecta la manguera y tapando los extremos se mezcla la dilución por unos minutos. Posteriormente se deja caer 3 gotas y se procede a llenar la cámara limpia.

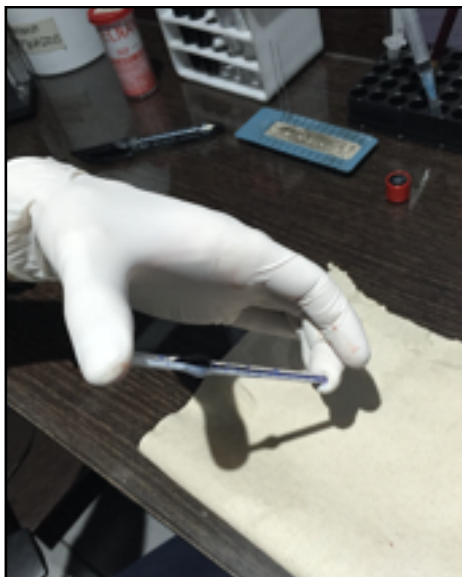


Figura 36. Mezcla de la pipeta de Thoma.

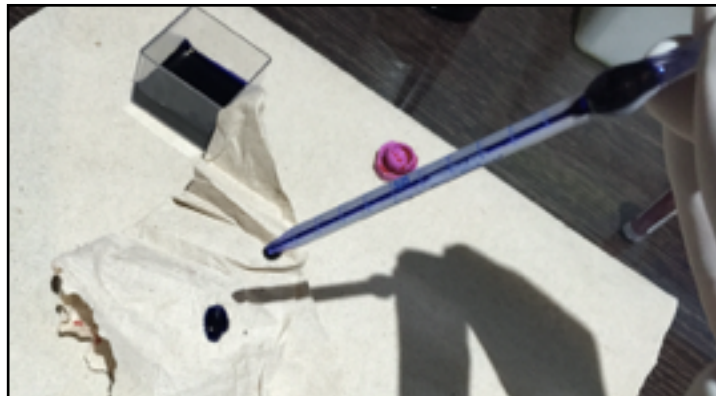


Figura 37. Desecho de las tres primeras gotas.

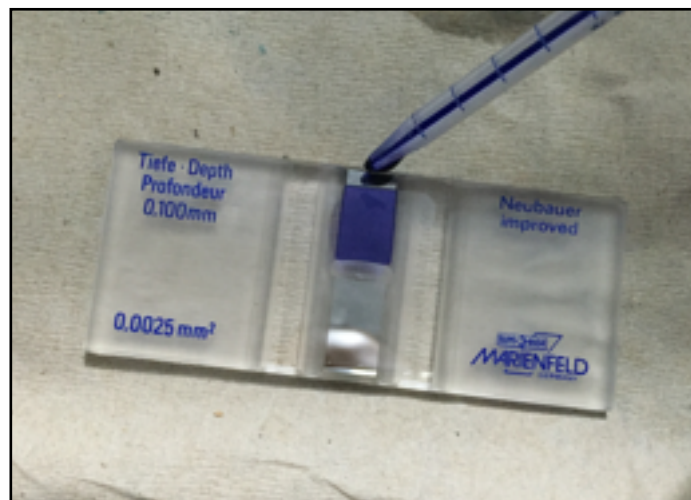


Figura 38. Llenado de Cámara de Neubauer.

Para el conteo total de leucocitos se coloca la cámara de Neubauer previamente llena, se deja reposar unos minutos para que las células se asienten y con el condensador bajo y el diafragma cerrado se observa al microscopio con en lente de 100x. Contabilizando los cuatro cuadrantes de los

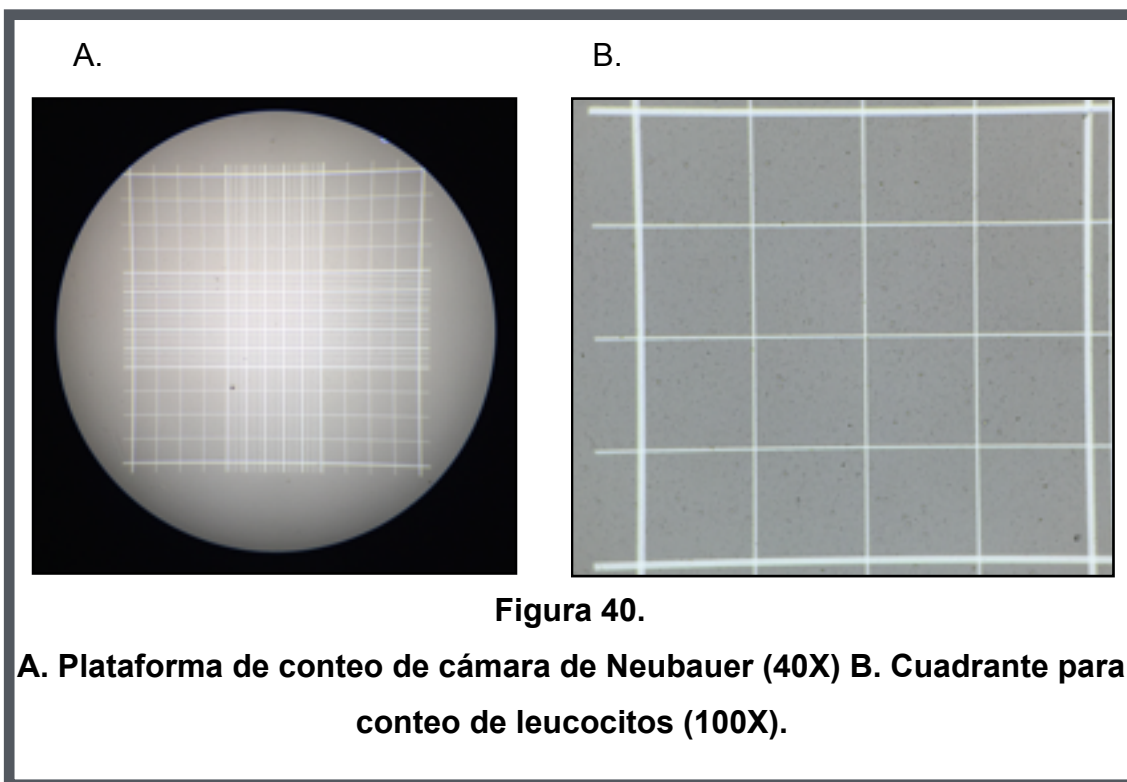
extremos correspondientes al conteo de leucocitos, usando ciertas teclas del piano contador.

La regla para contar las célula dice, que se cuentan las que estén sobre la línea izquierda y la línea superior, pero no se cuentan las que se encuentre sobre la línea derecha o la línea inferior. También tomando en cuenta que la diferencia del conteo entre cuadrantes no debe ser superior a 25% (Núñez, L. y Bouda, J., 2007, p. 56).

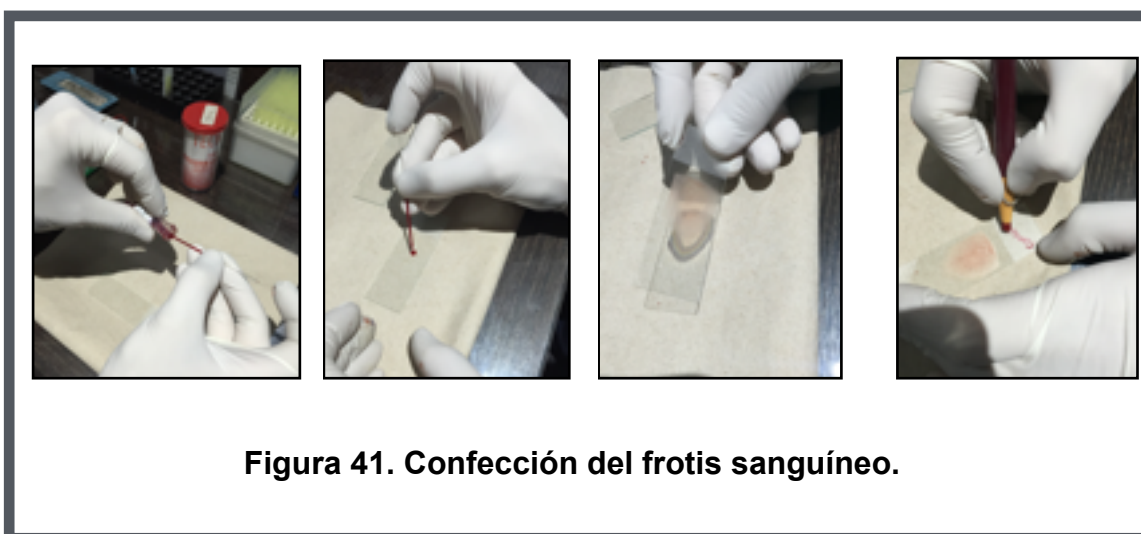
Cuando se tiene el conteo de los cuatro cuadrantes, se aplica la fórmula de conteo total de leucocitos y se obtiene el resultado.



Figura 39. Conteo total de leucocitos.



Posteriormente se confecciona el frotis sanguíneo, con la sangre homogenizada, se llena por capilaridad un microtubo y se coloca una gota en un extremo de la laminilla, con otra laminilla se arrastra la gota deslizándola. Una vez realizado el frotis se lo identifica.



La tinción que se utilizó fue la de Wright, usando como buffer agua destilada. Se estableció que el tiempo entre tinción y buffer, y entre buffer y lavado con agua corriente, fuese de tres minutos en ambas.

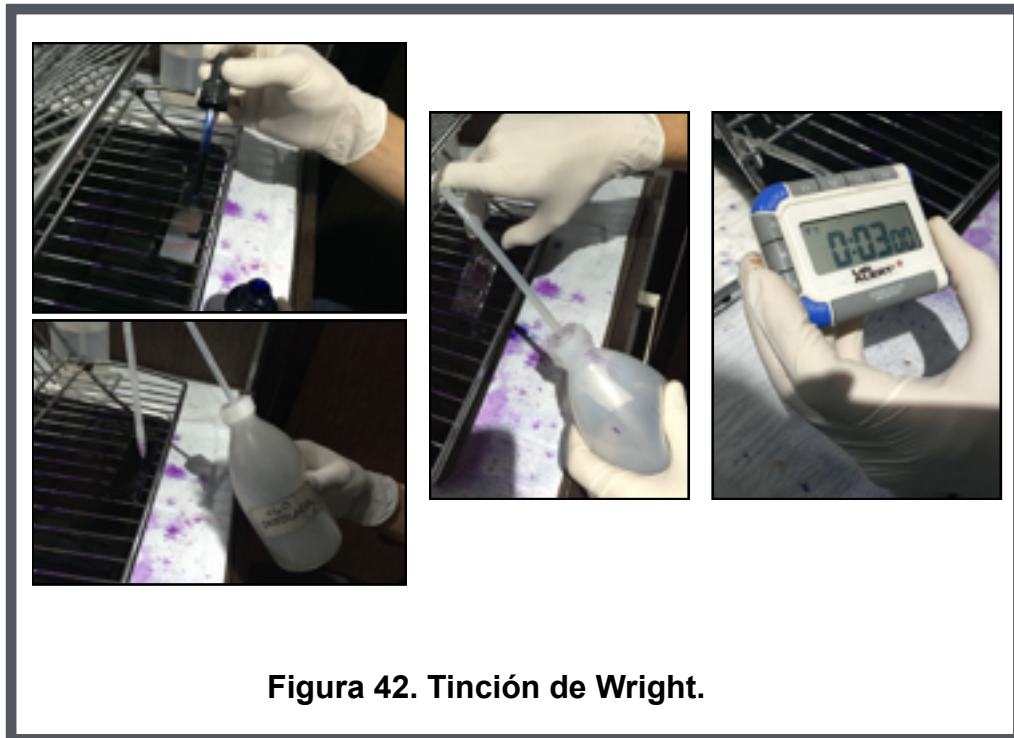


Figura 42. Tinción de Wright.

Después de que el frotis se seque al aire libre, se puede empezar con el diferencial de leucocitos y la observación de alteraciones en los mismos. Se observa con un lente de inmersión 1000X, con el condensador del microscopio alto y el diafragma abierto. Las 100 células evaluadas se las contabiliza en un piano contador de células, donde se las va diferenciando según el tipo.



Figura 43. Diferencial de leucocitos.

CAPITULO IV

4.1. Resultados y Discusión

Según los datos obtenidos en el estudio (Anexo 4), se pudo realizar los siguientes análisis estadísticos.

4.1.1. Análisis Estadístico

- T de Student Pareado para Leucocitos

Valor P y análisis estadístico:

La probabilidad representada por el valor P de dichas muestras pareadas es menor a 0.0001, considerándola en términos estadísticos extremadamente significativa. El método automatizado es más sensible en términos cuantitativos.

Intervalo de confianza:

La media de conteo de leucocitos manual, menos el conteo automático es igual a -0.2570. 95% de intervalo de confianza del siguiente intervalo: -0.3153 a -0.1986.

Valores intermedios usados en los cálculos:

$t = 8.6606$

$gl = 383$

Error standard de la diferencia = 0.030

Tabla 1. T de Student para Leucocitos

Grupo	Conteo Manual	Conteo Automático
Media	14.2031	14.4601
Desviación Estándar	9.0960	9.2809
Error standard de la media	0.4642	0.4736
N	384	384

- T de Student Pareado para Neutrófilos**Valor P y análisis estadístico:**

La probabilidad representada por el valor P de dichas muestras pareadas es menor a 0.0050, considerándola en términos estadísticos muy significativa. El método automatizado es más sensible en términos cuantitativos.

Intervalo de confianza:

La media de conteo de leucocitos manual, menos el conteo automático es igual a -0.1933. 95% de intervalo de confianza del siguiente intervalo: -0.3279 a -0.0587.

Valores intermedios usados en los cálculos:

$t = 2.8229$

$gl = 383$

Error standard de la diferencia = 0.068

Tabla 2. T de Student para Neutrófilos

Grupo	Conteo Manual	Conteo Automático
Media	10.6616	10.8549
Desviación Estándar	7.9243	8.4261
Error standard de la media	0.4044	0.4300
N	384	384

- T de Student Pareado para Linfocitos

Valor P y análisis estadístico:

La probabilidad representada por el valor P de dichas muestras pareadas es menor a 0.0001, considerándola en términos estadísticos extremadamente significativa. El método automatizado es más sensible en términos cuantitativos.

Intervalo de confianza:

La media de conteo de leucocitos manual, menos el conteo automático es igual a -0.1377. 95% de intervalo de confianza del siguiente intervalo: -0.2042 a -0.0711.

Valores intermedios usados en los cálculos:

$$t = 4.0674$$

$$gl = 383$$

$$\text{Error standard de la diferencia} = 0.034$$

Tabla 3. T de Student para Linfocitos

Grupo	Conteo Manual	Conteo Automático
Media	2.4146	2.5523
Desviación Estándar	1.7664	1.8638
Error standard de la media	0.0901	0.0951
N	384	384

- T de Student Pareado para Monocitos

Valor P y análisis estadístico:

La probabilidad representada por el valor P de dichas muestras pareadas es menor a 0.0001, considerándola en términos estadísticos extremadamente significativa. El método automatizado es más sensible en términos cuantitativos.

Intervalo de confianza:

La media de conteo de leucocitos manual, menos el conteo automático es igual a -0.0972. 95% de intervalo de confianza del siguiente intervalo: -0.1443 a -0.0501.

Valores intermedios usados en los cálculos:

$t = 4.0581$

$gl = 383$

Error standard de la diferencia = 0.024

Tabla 4. T de Student para Monocitos

Grupo	Conteo Manual	Conteo Automático
Media	0.4924	0.5896
Desviación Estándar	0.4390	0.4558
Error standard de la media	0.0224	0.0233
N	384	384

- T de Student Pareado para Eosinófilos**Valor P y análisis estadístico:**

La probabilidad representada por el valor P de dichas muestras pareadas es menor a 0.0007, considerándola en términos estadísticos extremadamente significativa. El método manual es más sensible en términos cuantitativos.

Intervalo de confianza:

La media de conteo de leucocitos manual, menos el conteo automático es igual a 0.0821. 95% de intervalo de confianza del siguiente intervalo: 0.0346 a 0.1296.

Valores intermedios usados en los cálculos:

$t = 3.3994$

$gl = 383$

Error standard de la diferencia = 0.024

Tabla 5. T de Student para Eosinófilos

Grupo	Conteo Manual	Conteo Automático
Media	0.4827	0.4006
Desviación Estándar	0.5233	0.4636
Error standard de la media	0.0267	0.0237
N	384	384

- T de Student Pareado para Basófilos

Valor P y análisis estadístico:

La probabilidad representada por el valor P de dichas muestras pareadas es menor a 0.0001, considerándola en términos estadísticos extremadamente significativa. El método automatizado es más sensible en términos cuantitativos.

Intervalo de confianza:

La media de conteo de leucocitos manual, menos el conteo automático es igual a -0.0641. 95% de intervalo de confianza del siguiente intervalo: -0.0728 a -0.0554.

Valores intermedios usados en los cálculos:

$$t = 14.4383$$

$$gl = 383$$

$$\text{Error standard de la diferencia} = 0.004$$

Tabla 6. T de Student para Basófilos

Grupo	Conteo Manual	Conteo Automático
Media	0.0089	0.0730
Desviación Estándar	0.0448	0.0784
Error standard de la media	0.0023	0.0040
N	384	384

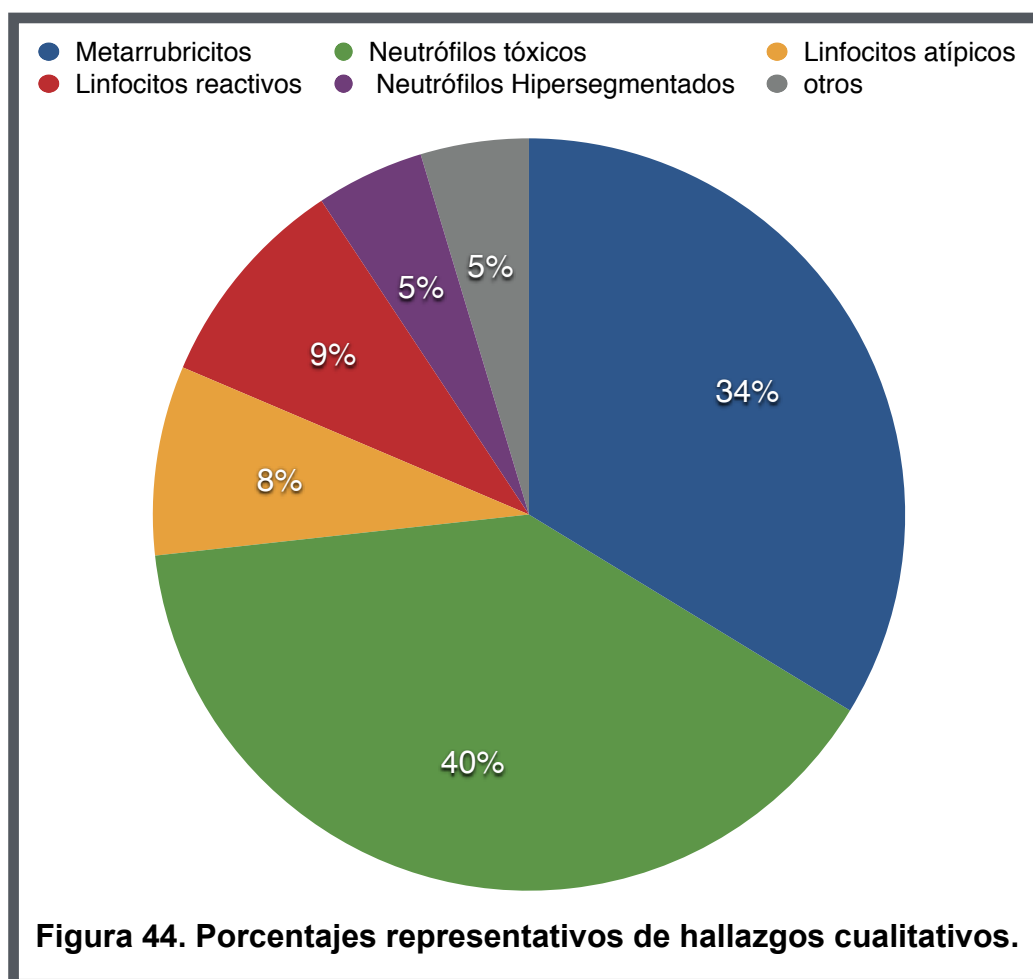
En todos los estudios anteriores los resultados mantienen una diferencia significativa estadísticamente relevante. Sin embargo considerando el valor P representativo de todas las muestras, en un universo descrito de variaciones donde las poblaciones no comprenden un patrón de promedios similares, la probabilidad de observar por lo menos una diferencia cuan grande entre las medias de las muestras es casi nula.

Tabla 7. Hallazgos cualitativos

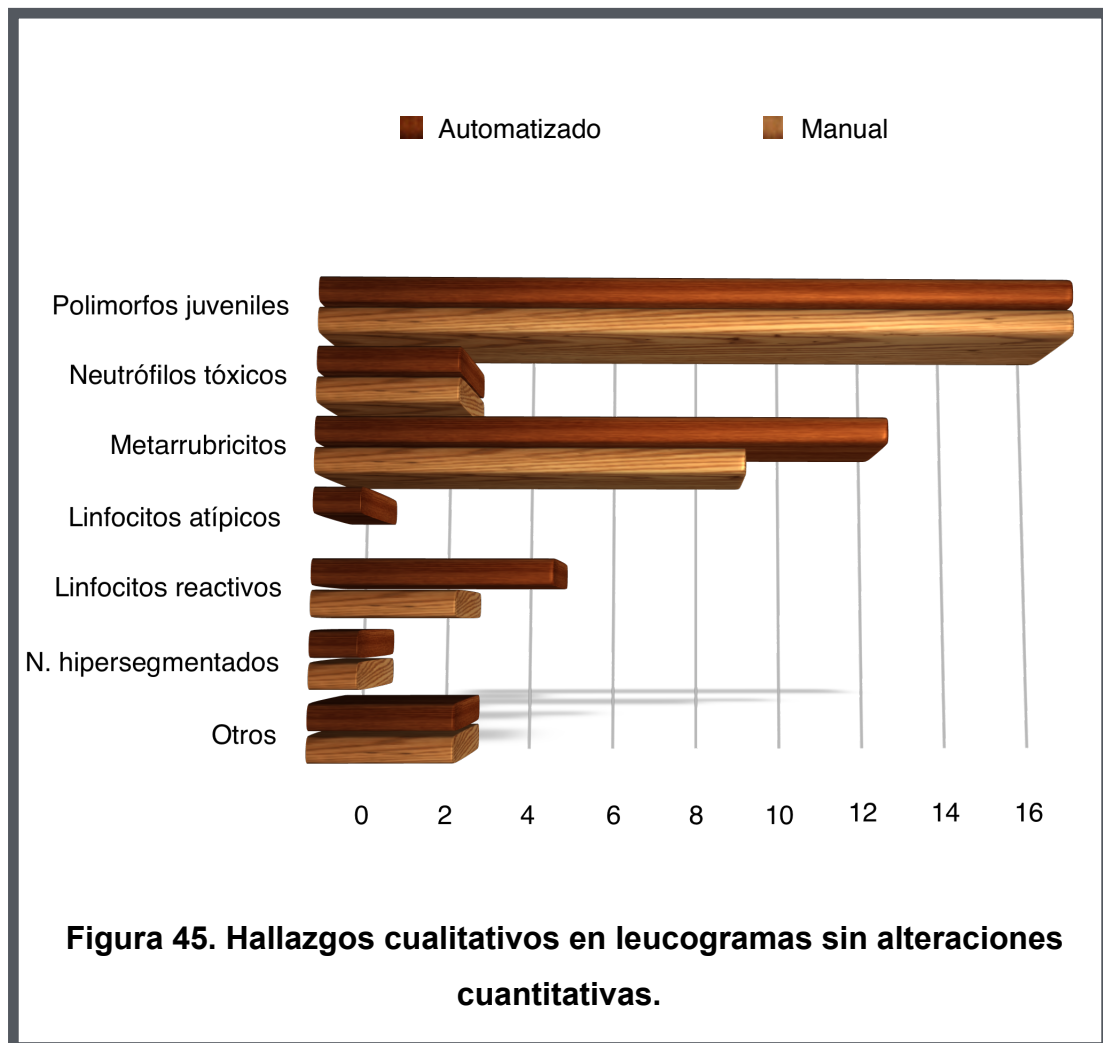
ANÁLISIS DE HALLAZGOS CUALITATIVOS

	VALOR ABSOLUTO	%	LEUCOCITOS		NEUTROFILOS		LINFOCITOS		MONOCITOS		EOSINOFILOS		BASOFILOS	
			EN RANGO	FUERA DE RANGO	EN RANGO	FUERA DE RANGO	EN RANGO	FUERA DE RANGO	EN RANGO	FUERA DE RANGO	EN RANGO	FUERA DE RANGO	EN RANGO	FUERA DE RANGO
POLIMORFONUCLEARES	74	19.3	49.0%	51.0%	43.2%	56.8%	77.0%	23.0%	81.1%	18.9%	71.6%	28.4%	81.1%	18.9%
BANDAS	20	5.2	0.0%	100.0%	0.0%	100.0%	50.0%	50.0%	70.0%	30.0%	80.0%	20.0%	75.0%	25.0%
METARUBRICITOS	58	15.1	43.0%	57.0%	45.0%	55.0%	72.4%	27.6%	81.0%	19.0%	60.3%	39.7%	82.8%	17.2%
NEUTROFILOS TOXICOS	68	17.7	14.7%	85.3%	13.2%	86.8%	73.5%	26.5%	80.9%	19.1%	69.1%	30.9%	80.9%	19.1%
LINFOCITOS ATÍPICOS	14	3.6	71.4%	28.6%	21.4%	78.6%	78.6%	21.4%	92.9%	7.1%	42.9%	57.1%	85.7%	14.3%
NEUTROFILOS HIPERSEGMENTADOS	8	2.1	87.5%	12.5%	37.5%	62.5%	100.0%	0.0%	87.5%	12.5%	62.5%	37.5%	100.0%	0.0%
LINFOCITOS REACTIVOS	16	4.2	87.5%	12.5%	87.5%	12.5%	68.8%	31.2%	87.5%	12.5%	43.8%	56.3%	68.8%	31.3%
ANOMALIAS DE PELGER-HUÉT	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
INCLUSIONES DE DISTEMPER	3	0.8	0.0%	100.0%	100.0%	0.0%	100.0%	0.0%	100.0%	0.0%	33.3%	66.7%	100.0%	0.0%
MORULAS DE HEMOPARASITOS	2	0.5	100.0%	0.0%	100.0%	0.0%	50.0%	50.0%	50.0%	50.0%	0.0%	100.0%	100.0%	0.0%
GAMONTES DE HEPATOZOON	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
FIGURAS MITÓTICAS	2	0.5	100.0%	0.0%	100.0%	0.0%	50.0%	50.0%	100.0%	0.0%	0.0%	100.0%	100.0%	0.0%
MASTOCITOS	1	0.3	100.0%	0.0%	100.0%	0.0%	0.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%	100.0%	100.0%	0.0%

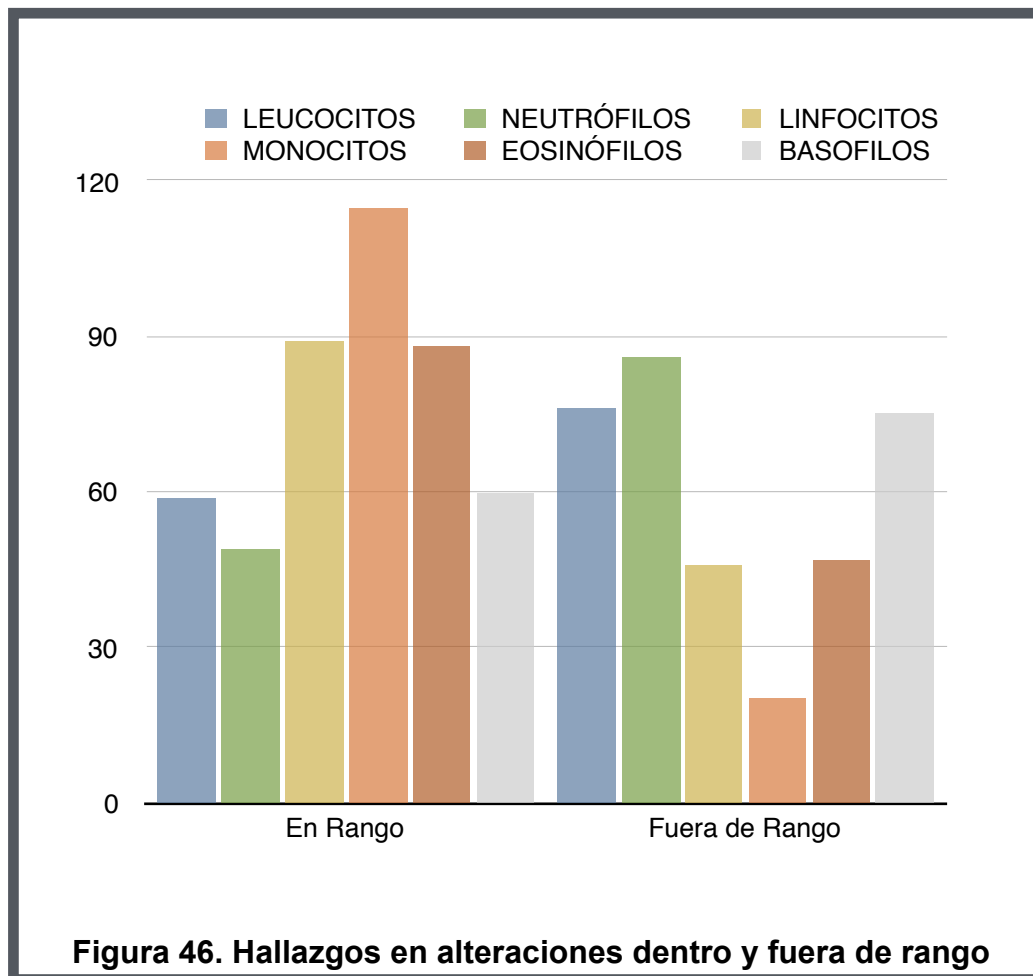
Evidencia de hallazgos cuantitativos que no obedecen un patrón de rango de normalidad dentro de las diferentes líneas de células medidas, sin embargo presentan aparición aleatoria dentro de leucogramas tanto dentro como fuera de rango, en porcentajes significativos.



Participación de cada uno de los hallazgos cualitativos representados en porcentaje. Hallazgos más relevantes: Neutrófilos Tóxicos, Metarrubricitos y Linfocitos reactivos.



Valores absolutos de hallazgos de cada análisis cuantitativo en leucogramas que obedecen a un rango estable para caninos "sanos". Reflejado en participación de hemograma automatizado tanto como manual en lo que respecta a rangos permisibles.



Hallazgos más predominantes indican presencia de anomalías cualitativas en cantidades significativas en leucogramas dentro de rangos normales.

CAPITULO V

5.1. Conclusiones y Recomendaciones

5.1.1 Conclusiones

Por lo observado en los hallazgos en la medición de leucocitos, existe una variación significativa entre las mediciones automatizadas y manuales, siendo esto esperado ya que el método automatizado tiene una probabilidad de conteo de células mucho mayor al del conteo manual debido a que la cantidad de muestra analizada es mayor. Sin embargo hallazgos de metarrubricitos en ciertas muestras alteran indirectamente el conteo leucocitario automatizado ya que al ser células nucleadas, pueden confundirse con leucocitos y por ende, erróneamente, formar parte del universo de dichas células. Así mismo en estos casos se presenta un aumento significativo en las células linfocitarias de dichas muestras sanguíneas, sugiriendo una confusión en el conteo automatizado por células de similares característica como son los linfocitos; reportándose así una variabilidad promedio del 32.7% en aumento respecto al conteo manual en un total de 64% de las muestras que presentan dicho hallazgo cualitativo.

La medición de neutrófilos en ambas modalidades se aproxima más que en comparación con las mediciones de las otras células sanguíneas bajo las mismas circunstancias. Por el volumen de células presentes en circulación en comparación con la presencia cuantitativa del resto de celularidad en el leucograma, son las de mayor incidencia, por ende en un universo mayor el margen de error de conteo de muestra disminuye y es como se ve reflejado en los conteos.

Al igual que los neutrófilos, los linfocitos presentan una diferencia significativa muy amplia entre los métodos de medición descritos. A pesar de ser las segundas células de mayor presentación en un leucograma normal, existe

mucha variación entre el conteo manual y automatizado el mismo se que hace más evidente en presencia de polimorfos nucleares juveniles y metarrubricitos, aumentando el número de conteo de los mismos en ambos casos.

En el caso de los monocitos, eosinófilos y basófilos existe una diferencia significativa aún mayor que en los grupos de células anteriores. Estos tres grupos de células son normalmente minoritarias en los leucogramas y en muchos casos normalmente ausentes. Es entendible que mientras mayor sea el número de muestra analizada mayor la probabilidad de hallazgo celular y en el caso de basofilia se evidencia este hallazgo ya que tiene la diferencia significativa de mayor importancia entre todas las células analizadas.

Los monocitos y eosinófilos llevan el tercer lugar en dispersión de datos entre las muestras pareadas analizadas. Debido a que el volumen de muestra para el conteo manual es menor, limita la posibilidad de hallazgo de células minoritarias. A pesar de la variabilidad entre conteos manuales y automatizados, los rangos de error en una muestra quedan indirectamente minimizados debido al amplio margen permitido en los valores de referencia de las células sanguíneas, y por ende no son clínicamente significativos en más del 90% de los casos.

La celularidad nucleada dentro del frotis sanguíneo comprende en su mayoría células de origen leucocitario, sin embargo en el 19% de los elementos analizados existe la presencia de células eritrocitarias nucleares inmaduras, los metarrubricitos, que juegan un papel importante en la dispersión de los datos del conteo total.

La integridad de las células leucocitarias es una valoración importante, sugerente a algún cambio en el organismo del individuo que debe ser considerado al momento del diagnóstico clínico. Los hallazgos de variabilidad en la integridad de los leucocitos tienen una presencia importante dentro de los leucogramas analizados, siendo mayor el de los neutrófilos tóxicos con un

28%, células que no obedecen un patrón leucocitario predecible dentro de los márgenes comprendidos para individuos sanos. Seguidos de estos se encuentran linfocitos atípicos y reactivos los mismos que obedecen una presentación cuantitativa en linfocitosis, mas no así en el conteo leucocitario total donde su mayor presentación es en leucogramas dentro de parámetros normales. Pudiendo estos ser hallazgos predecibles en análisis con presentaciones de cronicidad, la presentación cuantitativa de linfocitos atípicos obedece en su mayoría a una neutrofilia mientras la de linfocitos reactivos a una presentación de neutrófilos en su mayoría dentro de rango.

Se concluyó en el estudio, que el 35% de los hemogramas analizados presentaron por lo menos un hallazgo en cambios de la morfología de leucocitos y presencia de metarrubricitos, donde se debió corregir la fórmula leucocitaria.

5.1.2 Recomendaciones

- Siendo el leucograma un conjunto de células sanguíneas, con un sinnúmero de posibles variaciones y combinaciones, que no obedecen un régimen específico en su mayoría, es importante para el clínico veterinario conocer cada una de estas células, ya sea en sus características y posibles alteraciones, esto en cuanto a cambios en su morfología y nivel de concentración.
- Tomando en cuenta los posibles hallazgos específicos de ciertas enfermedades y/o hallazgos clínicos secundarios a ciertas patologías, los resultados sugieren que, al presentarse muchas anomalías en leucogramas aparentemente normales, el clínico tenga en su conocimiento la fisiología de la especie y la fisiopatología de la enfermedad para así poder discernir los resultados del examen laboratorial y tener un correcto acercamiento hacia el diagnóstico.

- Teniendo presente que el clínico es la herramienta principal para el diagnóstico de las enfermedades o alteraciones del metabolismo, deberá saber tomar con reserva ciertos resultados conociendo las virtudes y limitaciones de las diferentes metodologías de procesamiento de muestras sanguíneas
- Valorando la eficacia del pronto resultado del hemograma automatizado, no está por demás sugerirlo como un método de control rutinario para seguimiento de patología previamente diagnosticadas.
- Se debería siempre considerar la posibilidad de procurar que existan hallazgos mucho más específicos y determinantes de muchas enfermedades o complemento de las mismas que a la fecha sólo pueden ser identificados por métodos de microscopía realizados por expertos y conocedores de la materia.

REFERENCIAS

- Acott, 1999. Recuperado el 16 de Octubre del 2015 de https://es.wikipedia.org/wiki/Robert_Boyle.
- Allison, R. y Meinkoth, J. (2007). Clínicas veterinarias de norte América. Medicina de pequeños animales. Patología Clínica y Técnicas de Diagnóstico. Barcelona, España: ELSEVIER MASSON.
- Becker, M., Moritz, A., & Giger, U. (2008). Comparative clinical study of canine and feline total blood cell count results with seven in-clinic and two commercial laboratory hematology analyzers. *Veterinary Clinical Pathology / American Society for Veterinary Clinical Pathology*, 37(4), 373–84. doi:10.1111/j.1939-165X.2008.00085.x
- Brunck, M. E. G., Andersen, S. B., Timmins, N. E., Osborne, G. W., & Nielsen, L. K. (2014). Absolute counting of neutrophils in whole blood using flow cytometry. *Cytometry. Part A : The Journal of the International Society for Analytical Cytology*. doi:10.1002/cyto.a.22503
- Cerón, J. (2013). Análisis clínicos en pequeños animales, Buenos Aires, Argentina, Inter-Médica.
- Cowell, R., Tyler, R., Meinkoth, J., DeNicola, D., (2007). *Diagnostic Cytology and Hematology of the dog and cat*. Canada: Mosby.
- Day, M., Mackin A. y Littlewood J. (2012). *Manual de Hematología y Transfusión en pequeños animales*. Barcelona, España: Lexus.
- DeNicola, D. B. (2011). Advances in hematology analyzers. *Topics in Companion Animal Medicine*, 26(2), 52–61. doi:10.1053/j.tcam.2011.02.001

Diccionario de la lengua española (vigésima segunda edición), Real Academia Española, 2014. Recuperado el 1 Mayo del 2015 de <https://es.wikipedia.org/wiki/Hematolog%C3%ADa>.

Freeman, K. P., & Gruenwaldt, J. (1999). Quality control validation in veterinary laboratories. *Veterinary Clinical Pathology / American Society for Veterinary Clinical Pathology*, 28(4), 150–155. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12075513>

Harvey, J. W. (s.f.). *Veterinary Hematology A Diagnostic Guide and Color Atlas*.

König, H. (2008). *Anatomía de los animales domésticos, texto y atlas en color (segunda edición)*. Madrid, España: Panamericana.

Miller, M. (1972). *Diseción del perro*. Mexico, D.F., Mexico: Interamericana.

Schalm, O. W. (1962). Practical Veterinary Hematology. *The Canadian Veterinary Journal. La Revue Vétérinaire Canadienne*, 3(4), 116–9. Recuperado de <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1585868&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

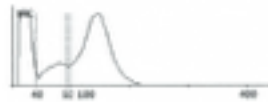
Stirn, M., Moritz, A., & Bauer, N. (2014). Rate of manual leukocyte differentials in dog, cat and horse blood samples using ADVIA 120 cytograms. *BMC Veterinary Research*, 10, 125. doi:10.1186/1746-6148-10-125 Recuperado en 2015 de <http://www.abaxis.com/veterinary/products/hm5.html>

ANEXOS

1) HISTOGRAMAS DE CONTADOR HEMATOLOGICO AUTOMÁTICO

HISTOGRAMS

- WBC Histogram (differential results generated by size determination)



- EOS Histogram (displays a direct EOS count)

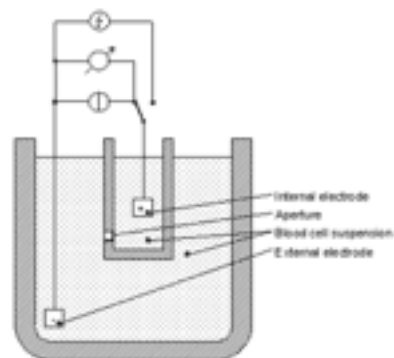


- RBC/PLT histogram



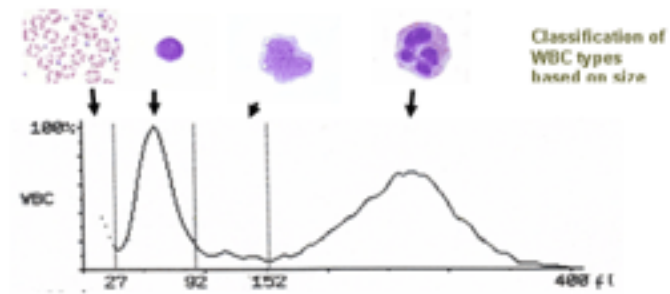
Tomado de: ABAXIS, 2015

2) MÉTODO DE IMPEDANCIA



Tomado de: ABAXIS, 2015

3) CLASIFICACIÓN DE GLOBULOS BLANCOS EN EL CONTADOR HEMATOLÓGICO AUTOMÁTICO



Fuente: ABAXIS, 2015

Tomado de: ABAXIS, 2015

4) RESULTADOS CUANTITATIVOS

RESULTADOS CUANTITATIVOS

N	LEUCOCITOS		NEUTROFILOS		LINFOCITOS		MONOCITOS		EOSINOFILOS		BASOFILOS	
	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO
1	6.9	7.86	6.5	6.34	0.2	0.22	0.2	0.4	0.0	0.9	0.0	0.0
2	7.1	6.96	4.9	4.56	2.1	1.86	0.1	0.21	0.0	0.26	0.0	0.08
3	8.4	8.24	4.9	4.83	2.8	2.47	0.1	0.54	0.6	0.30	0.0	0.1
4	8.3	7.91	6.2	6.46	1.4	1.27	0.0	0.05	0.7	0.12	0.0	0.01
5	70.3	73.21	40.1	59.07	11.2	13.56	2.1	0.32	1.4	0.25	0.0	0.01
6	5.2	5.86	4.4	4.43	0.5	0.87	0.0	0.08	0.3	0.46	0.0	0.02
7	6.2	7.2	3.9	3.56	2.2	2.54	0.0	0.33	0.0	0.65	0.0	0.12
8	16.2	15.92	13.0	13.59	2.1	2.03	1.1	0.27	0.0	0.03	0.0	0.0
9	17.7	17.7	16.1	16.16	1.2	0.98	0.2	0.08	0.0	0.46	0.0	0.02
10	7.9	8.13	3.8	3.98	3.5	3.45	0.4	0.66	0.2	0.03	0.0	0.01
11	15.2	14.88	12.7	12.60	1.8	0.91	0.5	1.3	0.2	0.05	0.0	0.01
12	26.5	27.1	24.4	25.57	0.8	0.76	1.3	0.44	0.0	0.25	0.0	0.08
13	14.9	14.9	11.3	10.01	2.1	3.49	0.9	0.76	0.6	0.54	0.0	0.1
14	7.7	7.39	5.8	5.98	1.7	1.10	0.1	0.23	0.1	0.06	0.0	0.02
15	10.2	9.81	5.3	5.17	3.6	4.02	0.9	0.15	0.4	0.40	0.0	0.07
16	16.7	16.6	13.2	14.12	2.3	2.1	0.5	0.35	0.7	0.02	0.0	0.01
17	16.2	15.74	13.6	13.72	2.3	1.02	0.2	0.6	0.1	0.14	0.0	0.06
18	14.2	13.97	9.5	9.95	3.4	3.37	0.3	0.44	1.0	0.15	0.0	0.05
19	9.6	9.88	7.7	8.12	0.6	0.8	0.3	0.45	0.9	0.41	0.1	0.1
20	14	14.42	11.8	11.54	2.1	2.49	0.1	0.22	0.0	0.12	0.0	0.05
21	11.8	11.87	7.7	8.78	2.8	2.55	0.7	0.29	0.6	0.22	0.0	0.03
22	9.7	9.86	8.2	8.88	0.8	0.63	0.3	0.34	0.4	0.02	0.0	0.01
23	12.9	12.58	7.3	6.75	1.7	1.98	0.5	0.91	3.0	2.8	0.4	0.14
24	36.2	37.25	30.7	30.94	2.2	3.5	1.8	1.55	1.1	0.86	0.0	0.4
25	5.6	6.03	4.3	4.97	0.4	0.56	0.3	0.29	0.3	0.21	0.0	0.0
26	11.6	11.47	7.7	7.37	3.1	2.66	0.2	0.65	0.6	0.62	0.0	0.17
27	11.6	11.34	7.8	7.65	2.6	2.92	0.5	0.65	0.7	0.1	0.0	0.02
28	4.8	5.24	4.4	4.1	0.3	0.56	0.1	0.32	0.0	0.25	0.0	0.01
29	13.7	14.29	5.6	5.92	5.4	6.55	0.7	0.71	1.7	1.09	0.0	0.02
30	19.7	19.74	14.2	15.54	3.5	2.28	1.4	0.14	0.4	1.49	0.0	0.3
31	11.7	12.54	10.1	11.11	0.6	0.8	0.2	0.34	0.8	0.23	0.0	0.06
32	7.8	7.84	6.7	6.66	0.5	0.8	0.1	0.05	0.5	0.21	0.0	0.05
33	8.2	8.29	6.1	7.12	1.6	0.61	0.1	0.5	0.1	0.05	0.0	0.0
34	16.7	16.49	12.2	11.41	1.2	3.38	0.0	1.24	2.8	0.38	0.5	0.08
35	6.4	6.3	3.5	3.01	2.6	2.98	0.1	0.24	0.2	0.05	0.0	0.02
36	12.7	12.97	8.8	9.49	1.7	1.75	0.8	0.91	1.4	0.62	0.0	0.19
37	13.4	13.13	10.7	10.58	2.7	1.97	0.0	0.39	0.0	0.14	0.0	0.05
38	11.4	11.33	9.4	9.51	0.9	0.99	0.9	0.34	0.2	0.36	0.0	0.13
39	9.5	9.1	5.6	6.02	2.7	2.49	0.9	0.47	0.3	0.1	0.0	0.02
40	25.3	26.3	20.0	22.55	3.0	3.45	1.0	0.27	1.3	0.03	0.0	0.0
41	26.9	27.03	20.7	19.14	3.5	5.22	0.8	2.24	1.1	0.31	0.0	0.12
42	14.2	14.48	12.2	11.51	1.1	1.68	0.9	0.97	0.0	0.24	0.0	0.07
43	2.5	2.76	1.8	1.65	0.6	0.55	0.0	0.08	0.1	0.46	0.0	0.02
44	5.5	5.92	4.1	3.97	0.9	1.1	0.2	0.26	0.3	0.48	0.0	0.11
45	9.1	9.13	6.8	6.76	1.8	1.58	0.4	0.51	0.1	0.23	0.0	0.05

N	LEUCOCITOS		NEUTROFILOS		LINFOCITOS		MONOCITOS		EOSINOFILOS		BASOFILOS	
	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO
46	8.7	8.11	6.2	6.09	2.0	1.94	0.2	0.04	0.3	0.04	0.0	0.0
47	12.3	13.83	11.2	11.45	0.7	0.98	0.3	0.65	0.0	0.59	0.0	0.16
48	13.1	12.94	6.9	7.34	4.7	4.56	0.7	0.41	0.8	0.47	0.0	0.16
49	8.8	8.88	6.6	6.62	1.0	1.55	0.1	0.45	1.1	0.2	0.0	0.06
50	6.7	6.83	6.1	5.98	0.5	0.78	0.1	0.05	0.0	0.01	0.0	0.01
51	10.3	10.22	6.0	6.65	3.0	2.3	0.8	0.49	0.5	0.66	0.0	0.12
52	11.9	11.89	8.5	8.5	2.6	2.56	0.0	0.43	0.8	0.32	0.0	0.08
53	13.3	13.65	8.2	7.43	4.2	4.54	0.4	0.68	0.4	0.84	0.1	0.16
54	9.9	9.47	4.7	4.34	4.5	5.01	0.1	0.32	0.6	0.15	0.0	0.05
55	9.1	9.24	5.6	5.41	2.5	2.5	0.1	0.5	0.9	0.68	0.0	0.15
56	13.0	13.24	10.0	10.76	0.8	0.76	0.7	0.16	1.5	1.56	0.0	0.0
57	13.4	13.63	10.2	11.25	2.0	1.8	0.5	0.39	0.7	0.14	0.0	0.05
58	13.8	13.85	12.1	12.11	0.9	1.16	0.4	0.32	0.4	0.22	0.0	0.04
59	5.9	6.53	5.4	5.38	0.3	0.51	0.1	0.32	0.0	0.3	0.0	0.02
60	38.3	39.48	33.3	35.78	2.3	2.74	2.3	0.88	0.4	0.06	0.0	0.02
61	9.2	9.11	7.4	7.76	1.0	1.04	0.8	0.23	0.0	0.06	0.0	0.02
62	12.2	12.65	8.0	8.32	3.3	3.58	0.8	0.31	0.1	0.36	0.0	0.08
63	17.5	18.01	15.6	14.27	1.1	2.53	0.5	0.58	0.3	0.46	0.0	0.17
64	8.5	8.54	4.4	5.22	3.1	3.24	0.3	0.05	0.7	0.01	0.0	0.01
65	15.3	15.76	11.9	12.36	1.7	1.27	1.2	1.09	0.5	0.81	0.0	0.24
66	9.4	9.58	7.6	7.28	1.3	1.35	0.3	0.53	0.2	0.34	0.0	0.08
67	15.6	16.18	6.2	8.21	8.1	6.02	0.2	1.55	1.1	0.32	0.0	0.08
68	8.6	8.66	6.2	5.8	1.7	1.47	0.4	0.29	0.3	0.96	0.0	0.14
69	20.5	20.9	16.4	16.95	3.1	2.65	0.4	1.11	0.4	0.13	0.2	0.06
70	15.9	15.88	10.3	11.01	4.8	3.06	0.5	0.72	0.3	0.85	0.0	0.24
71	6.7	7.48	4.4	4.34	2.0	2.84	0.0	0.22	0.3	0.06	0.0	0.02
72	21.7	24.1	17.0	15.32	3.0	5.91	1.3	2.1	0.2	0.63	0.0	0.14
73	9.5	9.64	5.3	5.32	3.5	3.38	0.3	0.16	0.4	0.64	0.0	0.14
74	11.3	11.13	6.8	6.66	3.2	3.81	0.3	0.26	1.0	0.39	0.0	0.01
75	16.5	16.87	11.5	11.03	3.3	3.97	0.7	1.25	1.0	0.42	0.0	0.2
76	10.6	10.61	8.5	8.96	0.9	0.9	1.0	0.56	0.2	0.14	0.0	0.04
77	10.7	10.71	7.5	7.74	1.6	2.39	0.9	0.52	0.6	0.04	0.1	0.01
78	12.6	12.88	11.2	11.4	0.6	0.54	0.5	0.81	0.0	0.1	0.0	0.03
79	10.7	10.59	8.6	8.13	1.5	1.31	0.0	0.53	0.6	0.46	0.0	0.16
80	8.7	8.45	4.7	4.12	2.5	2.87	0.3	0.23	1.0	1.23	0.2	0.0
81	6.1	5.85	4.3	4.39	1.2	0.9	0.3	0.31	0.2	0.17	0.0	0.08
82	13.5	15.01	11.3	11.99	1.4	2.0	0.0	0.02	0.5	0.98	0.0	0.02
83	14.4	14.3	8.0	8.1	5.0	5.65	0.4	0.21	1.0	0.26	0.0	0.08
84	13.0	12.8	8.3	8.21	2.6	2.64	0.4	0.95	1.7	0.82	0.0	0.18
85	5.1	5.12	4.4	4.23	0.4	0.34	0.1	0.21	0.2	0.26	0.0	0.08
86	13.5	15.58	7.2	7.3	4.0	4.87	0.8	1.1	1.5	2.3	0.0	0.01
87	7	7.12	5.8	5.89	1.0	0.92	0.2	0.05	0.0	0.21	0.0	0.05
88	9.7	9.62	7.7	8.19	0.8	0.8	0.3	0.59	0.9	0.03	0.0	0.01
89	7.1	8.3	2.9	3.20	3.7	4.31	0.3	0.51	0.2	0.23	0.0	0.05
90	14.6	15.11	7.3	7.0	6.7	6.98	0.5	0.91	0.1	0.17	0.0	0.05
91	9.9	10.09	7.5	7.03	1.7	2.45	0.4	0.36	0.3	0.19	0.0	0.06

N	LEUCOCITOS		NEUTROFILOS		LINFOCITOS		MONOCITOS		EOSINOFILOS		BASOFILOS	
	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO
92	41.4	43.9	27.7	31.87	11.2	11.45	0.4	0.32	0.0	0.25	0.0	0.01
93	11.3	11.38	8.2	8.7	2.6	1.66	0.3	0.64	0.2	0.25	0.0	0.13
94	9.3	8.75	5.1	5.01	2.8	3.01	0.5	0.17	0.8	0.47	0.1	0.09
95	13.3	13.64	9.0	9.39	3.0	2.75	0.8	0.82	0.4	0.55	0.0	0.13
96	12.1	11.99	9.8	9.6	1.2	1.54	0.4	0.18	0.7	0.52	0.0	0.15
97	28.7	28.9	20.9	22.76	5.2	5.64	0.3	0.29	0.9	0.21	0.0	0.0
98	12.2	12.35	7.3	9.99	3.7	3.8	0.5	0.91	0.6	0.52	0.0	0.14
99	11.2	11.44	5.3	6.01	4.9	4.8	0.7	0.34	0.3	0.23	0.0	0.06
100	8.8	9.32	6.0	5.99	2.1	2.19	0.3	0.43	0.4	0.62	0.0	0.09
101	11.1	10.81	7.5	7.89	2.5	2.30	0.3	0.15	0.7	0.40	0.0	0.07
102	9.1	9.35	6.0	6.71	2.2	2.2	0.2	0.33	0.7	0.09	0.0	0.02
103	17.4	17.43	13.6	14.52	2.6	2.15	1.0	0.48	0.2	0.23	0.0	0.05
104	9.9	9.64	5.0	5.09	3.8	3.98	0.3	0.52	0.8	0.04	0.0	0.01
105	5.7	6.34	4.5	4.43	1.1	1.5	0.1	0.27	0.0	0.09	0.0	0.05
106	8.5	9.14	5.3	6.12	2.8	2.07	0.3	0.53	0.1	0.34	0.0	0.08
107	64.2	65.7	57.2	64.83	0.6	0.59	0.0	0.26	0.0	0.02	0.0	0.0
108	7.9	7.76	4.3	4.32	3.1	2.85	0.2	0.4	0.3	0.15	0.0	0.04
109	5.4	6.08	2.5	2.12	2.7	3.1	0.1	0.37	0.1	0.47	0.0	0.02
110	10.0	9.96	8.4	8.3	1.4	1.41	0.2	0.23	0.0	0.02	0.0	0.0
111	28.2	28.8	24.5	25.17	3.1	3.12	0.6	0.3	0.0	0.2	0.0	0.01
112	8.8	9.2	6.3	6.49	1.8	2.01	0.5	0.66	0.2	0.03	0.0	0.01
113	20.3	20.71	13.1	14.96	5.6	5.6	1.2	0.13	0.4	0.01	0.0	0.0
114	25.9	25.9	21.0	21.13	3.4	4.0	1.0	0.44	0.5	0.25	0.0	0.08
115	11.2	12.1	5.8	6.23	5.2	5.2	0.2	0.66	0.0	0.01	0.0	0.00
116	10.7	11.66	7.8	8.94	1.9	1.94	0.5	0.34	0.3	0.35	0.0	0.09
117	16.3	16.3	15.2	15.69	0.3	0.21	0.3	0.05	0.2	0.32	0.0	0.03
118	26.3	27.0	20.2	22.18	3.2	4.23	0.3	0.4	2.6	0.15	0.0	0.04
119	9.2	9.84	6.3	5.93	2.2	2.58	0.3	0.76	0.4	0.51	0.0	0.06
120	8.5	8.7	7.3	7.09	0.8	0.98	0.4	0.59	0.0	0.03	0.0	0.01
121	6.5	7.09	4.5	4.82	1.4	1.86	0.5	0.33	0.1	0.06	0.0	0.02
122	12.4	12.34	8.6	6.82	3.5	4.06	0.1	1.03	0.2	0.35	0.0	0.08
123	2.4	3.17	1.4	2.09	0.6	0.5	0.1	0.32	0.2	0.25	0.0	0.01
124	19.9	19.03	17.3	16.61	2.0	1.17	0.0	0.62	0.6	0.6	0.0	0.03
125	17.6	17.43	8.4	9.39	7.9	7.34	0.4	0.44	0.9	0.22	0.0	0.04
126	6.1	6.58	5.5	5.76	0.4	0.23	0.2	0.4	0.0	0.15	0.0	0.04
127	14.3	14.78	12.8	13.13	0.6	1.0	0.4	0.6	0.4	0.04	0.0	0.02
128	11.0	10.95	3.9	4.43	3.8	3.89	0.8	0.64	2.5	1.98	0.0	0.01
129	49.3	48.11	45.3	40.7	1.5	6.16	1.0	0.32	1.0	0.75	0.0	0.18
130	15.5	15.9	10.2	11.45	3.7	3.01	1.1	0.93	0.3	0.35	0.0	0.18
131	13.1	13.34	7.2	7.55	4.1	4.98	0.9	0.54	0.9	0.17	0.0	0.10
132	6.9	6.85	4.5	4.01	2.1	2.42	0.1	0.29	0.1	0.13	0.0	0.0
133	20.1	20.49	18.7	18.0	0.8	0.88	0.6	1.58	0.0	0.03	0.0	0.0
134	19.7	20.47	16.9	17.54	1.2	1.7	1.0	0.96	0.6	0.2	0.0	0.07
135	3	3.13	1.9	1.92	0.6	0.44	0.3	0.44	0.2	0.25	0.0	0.08
136	7.9	8.09	5.8	5.92	1.1	1.23	0.5	0.16	0.5	0.64	0.0	0.14
137	11.7	11.66	9.0	9.18	1.6	1.74	0.5	0.17	0.6	0.47	0.0	0.09

N	LEUCOCITOS		NEUTROFILOS		LINFOCITOS		MONOCITOS		EOSINOFILOS		BASOFILOS	
	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO
138	18.8	18.3	11.7	11.84	5.6	4.09	0.4	1.57	0.9	0.74	0.0	0.14
139	11.6	11.74	8.0	8.46	2.3	2.42	0.5	0.49	0.8	0.26	0.0	0.12
140	7.6	7.94	6.1	6.73	1.2	1.10	0.1	0.06	0.0	0.04	0.0	0.01
141	5.6	5.91	4.8	4.78	0.5	0.7	0.2	0.35	0.1	0.08	0.0	0.0
142	14.6	14.33	10.5	10.37	2.2	2.39	1.0	1.11	0.9	0.44	0.0	0.02
143	66.4	68.97	51.8	59.18	8.0	9.23	4.6	0.31	0.7	0.17	0.0	0.08
144	12.3	12.29	8.4	8.26	3.6	2.33	0.2	0.64	0.1	0.88	0.0	0.18
145	13.3	13.0	10.8	10.89	0.8	1.33	0.8	0.64	0.7	0.12	0.2	0.02
146	6.7	6.64	3.9	3.76	1.5	1.5	0.3	0.45	1.0	0.87	0.0	0.06
147	15.3	15.43	14.1	14.66	0.3	0.21	0.6	0.08	0.3	0.46	0.0	0.02
148	10.4	11.15	9.8	10.3	0.1	0.23	0.5	0.56	0.0	0.05	0.0	0.01
149	7.8	8.02	6.8	6.54	0.8	1.41	0.1	0.07	0.1	0.01	0.0	0.0
150	10.3	10.59	8.0	8.29	1.0	1.64	1.0	0.64	0.3	0.01	0.0	0.01
151	8.2	7.79	5.2	5.11	1.8	1.59	0.5	0.33	0.7	0.65	0.0	0.12
152	8.6	8.96	6.7	7.1	1.5	1.47	0.2	0.06	0.2	0.32	0.0	0.01
153	10.3	10.21	9.4	9.03	0.2	0.4	0.1	0.34	0.3	0.35	0.1	0.09
154	7.3	7.38	5.2	4.95	1.2	2.01	0.5	0.35	0.4	0.08	0.0	0.0
155	9.6	9.36	5.9	5.44	2.3	2.47	0.2	0.71	1.2	0.61	0.0	0.14
156	10.1	10.36	8.7	8.45	1.1	1.49	0.3	0.17	0.0	0.23	0.0	0.02
157	4.9	5.37	4.0	4.1	0.6	0.76	0.3	0.3	0.0	0.2	0.0	0.01
158	1.7	1.44	0.48	0.54	0.51	0.60	0.03	0.27	0.65	0.03	0.03	0.0
159	13.2	13.22	10.1	10.03	2.0	1.86	0.8	0.46	0.3	0.56	0.0	0.2
160	23.4	22.34	13.1	13.42	8.6	6.61	1.2	1.34	0.5	0.86	0.0	0.11
161	8.3	8.36	5.6	4.87	2.1	2.04	0.1	0.71	0.5	0.61	0.0	0.14
162	12.0	12.09	9.7	9.6	1.5	1.74	0.2	0.31	0.6	0.36	0.0	0.08
163	6.6	6.64	4.8	5.54	1.3	0.72	0.4	0.35	0.1	0.02	0.0	0.01
164	7.5	7.86	4.7	5.21	1.1	1.16	0.9	0.35	0.8	1.02	0.0	0.12
165	11.1	11.01	8.5	8.6	1.6	1.79	0.4	0.56	0.6	0.05	0.0	0.01
166	9.2	9.22	6.4	6.55	2.4	1.53	0.2	0.43	0.2	0.62	0.0	0.09
167	8.9	9.23	7.0	7.12	1.5	1.48	0.3	0.59	0.1	0.03	0.0	0.01
168	3.9	4.76	3.0	3.98	0.5	0.4	0.3	0.35	0.1	0.02	0.0	0.01
169	17.5	17.45	14.3	14.46	2.6	2.56	0.4	0.35	0.2	0.08	0.0	0.0
170	11.7	11.61	9.5	9.87	1.6	1.06	0.5	0.66	0.1	0.01	0.0	0.00
171	15.5	15.64	11.5	11.37	3.6	2.91	0.1	0.39	0.3	0.74	0.0	0.23
172	12.5	13.28	9.3	9.45	2.2	2.89	0.7	0.81	0.4	0.1	0.0	0.03
173	13.1	12.92	7.6	7.74	3.9	3.46	0.4	0.91	1.2	0.62	0.0	0.19
174	12.7	13.23	5.3	5.43	6.4	6.34	0.8	1.03	0.2	0.35	0.0	0.08
175	8.6	9.08	5.9	5.9	1.9	2.48	0.3	0.53	0.5	0.12	0.0	0.05
176	15.7	15.67	5.4	6.27	8.3	8.45	0.9	0.5	1.1	0.44	0.0	0.01
177	18.2	18.63	14.8	14.11	2.2	3.24	1.1	1.22	0.0	0.04	0.0	0.01
178	7.6	7.61	5.9	5.96	1.1	0.94	0.5	0.44	0.0	0.22	0.1	0.04
179	11.0	11.01	9.2	9.01	0.6	0.98	0.4	0.64	0.8	0.25	0.0	0.13
180	8.1	8.33	5.9	6.34	1.4	1.9	0.2	0.04	0.6	0.06	0.0	0.0
181	57.6	54.92	50.1	49.98	4.6	2.76	1.7	1.98	0.0	0.15	0.0	0.05
182	15.4	15.45	10.9	11.91	2.5	2.1	0.9	0.41	1.1	0.8	0.0	0.3
183	13.6	13.58	9.5	9.23	2.7	2.50	0.7	0.63	0.7	1.0	0.0	0.2

N	LEUCOCITOS		NEUTROFILOS		LINFOCITOS		MONOCITOS		EOSINOFILOS		BASOFILOS	
	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO
184	10.4	10.71	7.3	7.82	1.5	1.56	0.5	0.76	1.1	0.51	0.0	0.06
185	12.2	12.17	11.1	11.39	0.7	0.61	0.4	0.08	0.0	0.07	0.0	0.01
186	20.1	20.54	15.5	15.44	2.6	2.82	1.0	0.8	0.2	1.41	0.0	0.07
187	12.9	13.23	9.5	10.21	2.3	2.38	0.5	0.44	0.6	0.13	0.0	0.07
188	7.6	7.76	4.1	4.35	2.3	2.8	0.5	0.36	0.7	0.19	0.0	0.06
189	14.0	13.84	9.5	9.61	3.8	2.89	0.3	0.96	0.4	0.3	0.0	0.07
190	11.7	11.78	6.3	6.75	4.7	4.2	0.6	0.61	0.1	0.16	0.0	0.06
191	46.8	47.23	43.5	44.7	1.9	2.11	0.9	0.29	0.0	0.13	0.0	0.0
192	9.6	9.73	7.6	7.32	1.1	1.38	0.6	0.85	0.3	0.17	0.0	0.01
193	9.3	9.37	6.8	5.95	2.2	2.17	0.1	0.69	0.2	0.43	0.0	0.14
194	12.2	12.02	10.5	10.04	1.1	1.21	0.4	0.74	0.2	0.03	0.0	0.00
195	16.1	16.6	10.8	10.51	4.5	3.01	0.3	0.96	0.5	1.91	0.0	0.25
196	8.3	8.63	5.0	4.79	2.3	2.58	0.2	0.69	0.8	0.43	0.0	0.14
197	7.9	7.86	4.4	4.51	2.2	2.53	0.6	0.5	0.7	0.25	0.0	0.07
198	9.5	9.06	8.0	8.1	1.4	0.85	0.1	0.06	0.0	0.04	0.0	0.01
199	6.0	5.98	3.5	3.76	1.3	1.52	0.5	0.44	0.7	0.22	0.0	0.04
200	5.8	6.3	3.4	3.23	1.7	2.33	0.1	0.28	0.6	0.41	0.0	0.11
201	24.4	24.1	17.8	15.35	4.6	6.10	1.5	1.44	0.0	1.01	0.0	0.19
202	9.4	9.71	4.3	4.98	2.6	3.11	0.6	0.53	1.9	0.93	0.0	0.16
203	7.1	7.48	5.9	6.30	0.8	0.76	0.2	0.27	0.0	0.09	0.0	0.05
204	10.6	10.67	8.6	7.85	1.9	2.3	0.1	0.32	0.0	0.15	0.0	0.05
205	9.6	9.55	7.7	8.05	1.1	1.02	0.3	0.3	0.5	0.12	0.0	0.05
206	10.4	10.53	7.2	6.27	2.5	3.35	0.5	0.66	0.2	0.24	0.0	0.01
207	5.5	5.98	2.8	3.06	2.3	2.15	0.3	0.44	0.1	0.25	0.0	0.08
208	5.5	5.5	4.1	4.32	0.7	0.78	0.3	0.05	0.4	0.32	0.0	0.03
209	7.1	7.1	5.1	5.08	1.6	1.15	0.3	0.37	0.1	0.47	0.0	0.02
210	11.7	11.77	9.9	9.26	1.6	1.56	0.1	0.34	0.1	0.47	0.0	0.14
211	11.9	11.93	10.3	9.96	1.2	1.14	0.2	0.43	0.2	0.32	0.0	0.08
212	8.1	8.25	4.7	5.11	3.0	3.0	0.2	0.4	0.2	0.9	0.0	0.0
213	20.4	20.28	15.5	15.3	3.7	3.35	1.0	1.18	0.2	0.26	0.0	0.19
214	9.8	9.64	6.2	6.32	2.1	2.58	0.3	0.56	1.2	0.14	0.0	0.04
215	26.8	26.9	23.8	24.59	1.6	1.45	1.1	0.37	0.0	0.47	0.0	0.02
216	10.7	10.75	8.8	7.95	1.2	2.39	0.2	0.17	1.3	0.23	0.0	0.02
217	14.9	14.87	6.7	7.4	7.2	7.4	0.1	0.06	0.9	0.01	0.0	0.0
218	18.8	19.68	12	10.10	4.7	7.54	1.1	1.36	0.8	0.55	0.0	0.13
219	10.0	10.27	6.8	6.81	2.2	3.02	0.3	0.33	0.7	0.09	0.0	0.02
220	13.7	13.73	9.3	9.07	3.3	3.35	0.5	0.8	0.3	0.49	0.0	0.01
221	10.8	10.83	9.3	9.61	0.7	0.91	0.4	0.28	0.4	0.02	0.0	0.01
222	25.2	26.1	23.18	24.64	0.7	0.7	0.8	0.05	0.0	0.7	0.0	0.01
223	11.8	11.47	9.7	9.53	0.9	0.99	0.4	0.34	0.6	0.47	0.2	0.14
224	8.9	9.66	6.1	6.09	2.3	2.3	0.0	0.49	0.5	0.66	0.0	0.12
225	9.6	9.72	7.6	7.78	1.1	1.03	0.6	0.66	0.3	0.24	0.0	0.01
226	10.2	10.63	5.3	5.12	4.5	5.20	0.3	0.28	0.1	0.02	0.0	0.01
227	25.3	24.25	20.7	20.7	2.8	2.29	0.3	0.71	0.0	0.39	0.0	0.16
228	43	44.7	38.5	39.79	2.7	2.08	1.8	2.77	0.0	0.04	0.0	0.02
229	13.8	13.87	11.5	10.45	2.3	2.21	0.0	0.66	0.0	0.42	0.0	0.12

N	LEUCOCITOS		NEUTROFILOS		LINFOCITOS		MONOCITOS		EOSINOFILOS		BASOFILOS	
	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO
230	13.9	13.87	7.5	8.78	5.0	4.78	0.7	0.24	0.7	0.05	0.0	0.02
231	9.5	9.44	7.0	7.34	1.2	1.28	0.2	0.5	1.1	0.25	0.0	0.07
232	11.8	12.04	5.9	6.10	4.8	5.30	0.6	0.62	0.5	0.02	0.0	0.00
233	6.3	6.94	4.2	4.0	1.0	1.45	0.4	0.35	0.7	1.02	0.0	0.12
234	16.1	16.69	13.5	14.39	1.8	1.3	0.2	0.97	0.6	0.03	0.0	0.01
235	9.7	9.76	7.2	7.53	1.7	1.53	0.5	0.53	0.3	0.12	0.0	0.05
236	8.7	8.89	6.4	6.57	1.4	1.37	0.3	0.33	0.6	0.5	0.0	0.12
237	15.2	15.2	13.5	13	1.4	1.4	0.0	0.28	0.0	0.41	0.0	0.11
238	10.4	10.47	5.8	5.99	3.6	3.46	0.2	0.85	0.8	0.17	0.0	0.01
239	7.5	7.48	5.1	5.25	1.5	1.59	0.1	0.32	0.7	0.3	0.1	0.02
240	12.6	12.56	6.4	7.23	3.9	3.21	0.4	1.15	1.9	0.78	0.0	0.19
241	14.1	14.96	12.2	12.54	0.4	0.3	0.9	1.15	0.6	0.78	0.0	0.19
242	13.9	14.21	12.4	12.45	1.4	1.35	0.1	0.27	0.0	0.09	0.0	0.05
243	17.6	17.61	13.7	14.29	2	2.23	0.5	1.06	1.4	0.02	0.0	0.01
244	22.3	22.39	12.9	12.36	5.9	6.86	0.8	0.7	2.5	1.97	0.2	0.5
245	9.1	9.87	5.0	5.90	3.4	3.02	0.1	0.5	0.6	0.44	0.0	0.01
246	16.6	16.41	14.4	13.73	1.5	1.71	0.5	0.92	0.2	0.04	0.0	0.01
247	7.9	7.93	5.8	5.79	1.4	1.36	0.2	0.55	0.5	0.08	0.0	0.0
248	11.8	11.52	9.8	8.9	1.9	1.79	0.1	0.61	0.0	0.16	0.0	0.06
249	9.7	9.64	7.2	7.64	0.7	1.06	0.3	0.54	1.5	0.30	0.0	0.1
250	11.1	11.1	8.8	8.65	1.8	1.8	0.3	0.62	0.2	0.02	0.0	0.00
251	13.3	13.68	8.5	8.57	3.2	4.06	0.3	0.3	1.3	0.59	0.0	0.15
252	10.8	10.85	6.0	6.66	2.5	3.11	0.8	0.71	1.5	0.3	0.0	0.08
253	11.6	11.47	7.1	7.23	2.8	2.83	0.6	0.49	1.1	0.8	0.0	0.12
254	13.0	13.16	9.0	9.23	3.3	2.83	0.6	0.33	0.1	0.58	0.0	0.19
255	10.7	10.53	4.4	4.12	5.7	5.75	0.2	0.26	0.4	0.39	0.0	0.01
256	12.3	12.57	10.7	10.63	1.2	1.58	0.4	0.34	0.0	0.02	0.0	0.0
257	6.3	6.35	3	3.42	2.1	2.41	0.2	0.3	0.9	0.2	0.0	0.01
258	5.2	5.91	2.7	2.98	1.7	1.98	0.1	0.5	0.6	0.44	0.1	0.01
259	10.2	10.28	8.5	8.09	0.9	1.1	0.2	0.71	0.5	0.3	0.0	0.08
260	8.7	9.4	5.8	6.94	1.5	1.48	0.7	0.65	0.4	0.32	0.0	0.01
261	18.4	18.59	14.9	15.62	3.1	1.98	0.2	0.74	0.2	0.17	0.0	0.09
262	7.7	7.72	5.6	4.56	1.8	2.62	0.2	0.31	0.1	0.17	0.0	0.08
263	6.7	7	2.60	3.06	2.6	2.78	0.4	0.26	1.1	0.9	0.0	0.0
264	6.3	6.18	3.1	2.78	1.7	2.64	0.4	0.05	1.1	0.7	0.0	0.01
265	22.6	22.99	19.9	19.24	2.7	2.46	0.0	1.24	0.0	0.05	0.0	0.0
266	15.2	15.29	10.6	10.47	2.6	3.59	0.8	1.07	1.2	0.14	0.0	0.01
267	7.1	7.24	3.3	3.64	3.2	2.75	0.2	0.26	0.4	0.48	0.0	0.11
268	10.1	10.23	7.8	7.7	0.6	1.21	0.4	0.5	1.3	0.68	0.0	0.15
269	7.1	7.48	5.1	4.93	1.8	1.74	0.1	0.28	0.1	0.41	0.0	0.11
270	21.7	22.41	17.4	17.54	2.8	3.20	0.4	1.02	1.1	0.58	0.0	0.08
271	6.3	6.94	3.8	3.56	1.5	2.75	0.6	0.55	0.4	0.08	0.0	0.0
272	10.8	10.87	5.4	6.8	3.3	2.09	0.8	0.56	1.3	1.25	0.0	0.16
273	13.9	13.94	10.8	11.16	1.7	1.47	0.6	0.66	0.4	0.62	0.0	0.04
274	12.1	11.99	7.3	7.21	3.8	4.01	0.4	0.74	0.6	0.03	0.0	0.00
275	16.8	16.77	14.0	13.91	1.3	1.46	1.0	0.66	0.3	0.54	0.0	0.19

N	LEUCOCITOS		NEUTROFILOS		LINFOCITOS		MONOCITOS		EOSINOFILOS		BASOFILOS	
	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO
276	9.6	9.65	7.2	7.24	1.5	1.01	0.5	0.29	0.3	0.96	0.0	0.14
277	12.5	12.41	9.6	9.67	1.4	1.02	0.5	0.16	1.0	1.56	0.0	0.0
278	22.7	24.31	14.1	14.76	6.5	6.63	0.5	0.44	1.6	2.15	0.0	0.33
279	10.3	10.36	7.4	7.34	2.2	2.05	0.3	0.45	0.4	0.41	0.0	0.1
280	11.8	11.72	8.0	7.97	3.1	2.97	0.7	0.65	0.0	0.1	0.0	0.02
281	9.0	8.84	6.8	7.27	1.4	0.59	0.3	0.88	0.5	0.06	0.0	0.02
282	10.2	10.04	8.1	8.04	1.4	1.66	0.3	0.31	0.4	0.02	0.0	0.01
283	25.2	24.35	23.0	21.81	1.3	1.17	0.5	1.34	0.2	0.02	0.0	0.01
284	10.0	10.28	6.4	6.53	1.4	2.14	0.6	0.74	1.6	0.71	0.0	0.15
285	11.9	11.97	8.5	8.76	2.6	2.35	0.0	0.18	0.8	0.52	0.0	0.15
286	11.1	10.96	10.6	10.45	0.2	0.2	0.3	0.19	0.0	0.09	0.0	0.03
287	13.8	14.23	10.6	10.84	2.1	2.06	0.6	0.56	0.5	0.59	0.0	0.18
288	21.4	21.46	14.8	14.75	4	4.54	0.9	1.82	1.7	0.27	0.0	0.08
289	20.8	21.23	19.6	19.32	0.0	1	0.2	0.84	0.0	0.05	0.0	0.02
290	13.0	13.67	8.2	9.0	4.2	4.31	0.1	0.34	0.4	0.02	0.1	0.0
291	10.3	10.05	6.0	7.24	3.0	1.18	0.8	0.86	0.5	0.62	0.0	0.15
292	13.7	14.1	12.0	12.14	1.6	1.45	0.1	0.3	0.0	0.2	0.0	0.01
293	6.7	8.13	6.1	6.2	0.5	0.98	0.1	0.33	0.0	0.5	0.0	0.12
294	8.8	9.06	6.6	7.9	1.0	0.88	0.1	0.26	1.1	0.02	0.0	0.0
295	14.8	14.81	8.8	8.36	4.1	4.39	0.4	1.01	1.5	1.02	0.0	0.03
296	11.8	11.75	9.7	10.11	0.9	0.87	0.4	0.29	0.6	0.45	0.2	0.03
297	8.3	8.31	5.3	5.6	2.1	2.29	0.2	0.33	0.6	0.06	0.1	0.02
298	13.8	13.8	12.3	12.38	0.8	0.9	0.6	0.13	0.0	0.29	0.0	0.1
299	12.3	14.26	11.2	13.5	0.7	0.6	0.3	0.08	0.0	0.07	0.0	0.01
300	16.0	16.09	13.1	12.22	1.6	1.94	0.8	0.62	0.3	1.13	0.0	0.17
301	9.2	9.61	6.2	6.1	2.5	2.3	0.2	0.44	0.3	0.62	0.0	0.15
302	9.6	10.08	7.0	6.52	2.3	2.9	0.3	0.64	0.0	0.01	0.0	0.01
303	12.6	12.71	9.1	9.20	2.4	2.48	0.7	0.41	0.4	0.47	0.0	0.16
304	9.6	9.62	7.7	8.19	0.6	0.8	0.3	0.59	0.9	0.03	0.1	0.01
305	10.7	11.41	9.0	9.08	1.2	1.5	0.4	0.34	0.1	0.36	0.0	0.13
306	38.5	42.1	29.6	31.71	6.2	6.64	1.2	3.64	0.4	0.09	0.0	0.01
307	6.2	6.46	3.9	3.51	2.2	2.43	0.0	0.13	0.0	0.29	0.0	0.1
308	5.5	5.99	4.7	4.87	0.5	0.7	0.0	0.29	0.3	0.13	0.0	0.0
309	8.3	8.26	6.2	6.49	1.4	1.47	0.0	0.24	0.7	0.05	0.0	0.02
310	6.4	7.78	6.0	6.93	0.2	0.3	0.1	0.5	0.0	0.05	0.0	0.0
311	21.4	21.06	18.5	17.43	1.7	1.97	0.6	1.06	0.0	0.44	0.0	0.16
312	6.3	6.99	5.4	5.93	0.8	0.98	0.1	0.07	0.0	0.01	0.0	0.0
313	17.5	17.51	13.5	12.46	2.5	3.24	0.7	0.64	0.5	0.9	0.0	0.26
314	17.7	18.25	16.1	16.18	1.2	1.26	0.2	0.77	0.0	0.02	0.0	0.01
315	12.1	12.37	7.6	7.84	2.5	2.85	0.6	0.68	1.3	0.84	0.0	0.16
316	16.2	16.77	13.0	13.38	2.1	2.46	1.1	0.45	0.0	0.36	0.0	0.12
317	8.1	8.53	5.0	4.88	2.8	3.28	0.2	0.34	0.1	0.02	0.0	0.01
318	7.1	7.24	4.9	4.45	2.1	2.40	0.1	0.05	0.0	0.32	0.0	0.03
319	17.4	17.74	12.2	13.07	4.0	2.48	1.0	1.53	0.2	0.45	0.0	0.21
320	14.2	14.48	9.5	9.47	3.4	3.02	0.3	0.64	1.0	1.13	0.0	0.22
321	12.8	12.94	11.4	11.24	0.3	0.89	0.8	0.54	0.3	0.17	0.0	0.10

N	LEUCOCITOS		NEUTROFILOS		LINFOCITOS		MONOCITOS		EOSINOFILOS		BASOFILOS	
	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO
322	21.2	21.86	17.6	17.09	2.1	3.31	1.1	1.09	0.4	0.26	0.0	0.11
323	16.2	16.28	13.6	12.91	2.3	2.51	0.2	0.82	0.1	0.03	0.0	0.01
324	11.3	11.54	9.5	9.07	1.5	2.17	0.2	0.19	0.0	0.09	0.0	0.03
325	15.1	14.86	10.4	9.86	2.4	4.75	1.1	0.18	1.2	0.06	0.0	0.01
326	16.6	16.8	12.2	10.39	3.6	3.16	0.5	1.41	0.3	1.59	0.0	0.25
327	12.7	13.05	9.6	9.72	2.4	2.21	0.6	0.91	0.1	0.17	0.0	0.05
328	16.7	17.70	13.2	13.48	2.3	1.89	0.5	1.68	0.7	0.4	0.0	0.25
329	10.2	10.22	5.3	5.2	3.6	3.05	0.9	0.56	0.4	1.25	0.0	0.16
330	8.3	9.32	5.3	5.98	2.6	2.87	0.4	0.3	0.0	0.12	0.0	0.05
331	8	8.1	4.4	4.65	1.4	1.65	1.1	0.9	1.1	0.9	0.0	0.0
332	9.6	9.67	6.7	6.97	1.8	1.43	0.4	0.06	0.7	1.19	0.0	0.01
333	7.7	7.81	5.8	5.94	1.7	1.35	0.1	0.13	0.1	0.29	0.0	0.1
334	14.9	15.04	11.3	11.21	2.1	2.06	0.9	0.69	0.6	0.85	0.0	0.23
335	10.0	9.86	3.5	3.95	5.5	5.83	0.3	0.04	0.7	0.04	0.0	0.0
336	15.2	14.99	12.7	11.6	1.8	2.04	0.5	1.2	0.2	0.12	0.0	0.04
337	12.4	12.54	9.2	8.12	2.1	2.48	0.5	0.95	0.6	0.82	0.0	0.18
338	7.9	8.4	3.8	3.73	3.5	3.87	0.4	0.74	0.2	0.04	0.0	0.02
339	9.8	10.28	6.5	6.77	2.9	2.92	0.1	0.47	0.2	0.1	0.0	0.02
340	22.1	22.26	14.1	14.77	6.1	6.49	0.5	0.45	0.9	0.48	0.0	0.08
341	30.3	31.05	25.8	27.24	1.5	2.82	0.3	0.94	0.0	0.05	0.00	0.00
342	14.2	14.43	12.2	12.09	1.1	1.63	0.9	0.48	0.0	0.19	0.0	0.04
343	31.7	32.41	24.3	27.3	2.1	3.56	0.04	1.03	0.0	0.37	0.00	0.15
344	11.1	11.33	9.1	9.26	1.5	1.35	0.5	0.64	0.0	0.07	0.0	0.01
345	16.3	16.38	10.7	8.56	3.9	5.93	0.7	0.66	1.0	1.05	0.0	0.18
346	22.9	23.49	18.1	17.9	2.9	3.68	1.1	1.47	0.2	0.38	0.0	0.07
347	24.2	23.93	17.3	15.51	5.1	7.35	0.9	0.27	0.3	0.62	0.0	0.19
348	14.9	14.72	9.5	10.05	4.1	3.72	0.1	0.09	1.2	0.67	0.0	0.19
349	34.1	33.33	30.7	29.47	2.1	2.43	1.1	1.28	0.2	0.13	0.0	0.02
350	21.5	20.18	16.9	15.88	1.2	1.37	1.0	1.11	0.9	1.51	0.0	0.3
351	29.8	32.03	23.8	24.54	4.2	5.36	0.7	0.86	0.9	0.96	0.2	0.31
352	22.3	22.78	18.9	19.16	2.5	2.12	0.5	0.8	0.4	0.53	0.0	0.18
353	19.1	18.97	16.2	14.14	1.3	1.37	1.0	0.77	0.6	2.4	0.0	0.28
354	15.6	15.65	8.0	7.5	3.1	2.71	0.6	0.83	3.9	4.39	0.0	0.23
355	31.1	32.61	26.9	28.03	3.3	3.73	0.6	0.72	0.3	0.1	0.0	0.03
356	16.5	18.35	10.6	11.32	5.2	6.24	0.5	0.68	0.1	0.09	0.0	0.02
357	7.4	7.33	4.5	4.29	2.1	2.54	0.5	0.29	0.3	0.21	0.0	0.0
358	21.5	21.81	16.3	15.94	3.7	3.2	1.3	1.95	0.2	0.69	0.0	0.33
359	44	44.96	38.8	39.38	2.4	1.93	2.8	3.48	0.0	0.13	0.0	0.04
360	51.6	52.9	47.5	47.37	2.9	3.65	1.1	1.27	0.1	0.55	0.0	0.06
361	32.5	33.91	30.9	31.13	1.2	1.57	0.4	1.18	0.0	0.03	0.0	0.01
362	9	9.21	7.2	7.5	1.0	0.91	0.8	0.74	0.0	0.04	0.0	0.02
363	16.3	16.48	11.7	12.18	2.9	2.47	0.7	0.9	1.0	0.74	0.0	0.19
364	17.7	18.39	16.2	15.80	1.0	1.09	0.3	0.67	0.2	0.56	0.0	0.28
365	20.7	20.15	19.3	17.93	0.9	1.30	0.5	0.87	0.0	0.15	0.0	0.01
366	32.1	32.48	30.2	29.52	1.1	1.5	0.9	1.28	0.0	0.15	0.0	0.03
367	11.9	12.16	6.4	6.06	4.6	4.70	0.4	0.65	0.5	0.59	0.0	0.16

N	LEUCOCITOS		NEUTROFILOS		LINFOCITOS		MONOCITOS		EOSINOFILOS		BASOFILOS	
	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO	MANUAL	AUTOMATICO
368	21.1	20.78	19.0	18.18	1.0	1.25	1.1	1.32	0.0	0.02	0.0	0.0
369	22	21.87	19.9	19.30	1.1	1.36	1	1.0	0.0	0.06	0.0	0.01
370	15.9	15.68	11.8	11.7	3.1	2.55	0.9	1.03	0.1	0.30	0.0	0.1
371	21.3	21.98	19.4	18.05	1.1	1.9	0.7	1.8	0.1	0.22	0.0	0.01
372	17.9	17.77	10.9	10.02	5.7	5.47	0.1	0.52	1.2	1.76	0.0	0.0
373	14.7	14.96	11.1	11.21	3.2	3.18	0.4	0.52	0.0	0.05	0.0	0.0
374	24.8	25.43	18.9	18.54	5.1	5.56	0.5	0.69	0.3	0.48	0.0	0.16
375	19.8	20.24	17.8	17.24	1.8	2.12	0.3	0.8	0.0	0.07	0.0	0.01
376	32	32.96	27.9	29.19	3.2	2.62	0.9	1.08	0.0	0.06	0.0	0.01
377	28.7	29.61	15.3	16.22	13.1	12.76	0.1	0.16	0.2	0.44	0.0	0.02
378	23.4	24.39	13.1	13.00	8.1	8.98	1.5	1.39	0.7	1.00	0.0	0.02
379	20.9	22.06	19.5	20.06	1.0	1.24	0.4	0.75	0.0	0.01	0.0	0.0
380	19	20.07	14.2	14.52	4.8	5.07	0.0	0.13	0.0	0.33	0.0	0.02
381	17.5	18.82	10.9	11.16	6.1	6.15	0.2	0.67	0.3	0.61	0.0	0.23
382	19.1	20.7	15.9	16.1	2.7	3.09	0.5	0.88	0.0	0.05	0.0	0.04
383	3.7	4.08	3.2	3.4	0.4	0.37	0.1	0.27	0.0	0.03	0.0	0.0
384	25.7	26.79	21.7	22.32	2.9	3.14	0.5	0.45	0.6	0.87	0.0	0.01

N	METARRUBRICITOS	NEUTROFILOS TOXICOS	BANDAS	LINFOCITOS ATIPICOS	NEUTROFILOS HIPERSEGMENTADOS	ANOMALIA DE PELGER-HUET	LINFOCITOS REACTIVOS	INCLUSION DE DISTEMPER	MORULAS HEMOPARASITOS	GAMONTES DE HEPATOZOON	FIRUGAS MITOTICAS	MASTOCITOS
284												
285												
286					SI							
287												
288		SI										
289		SI	SI									
290												
291												
292												
293	SI	SI										
294												
295							SI					
296												
297												
298	SI											
299	SI											
300				SI								
301												
302												
303												
304												
305												
306	SI	SI	SI									
307												
308												
309												
310	SI			SI				SI				
311		SI	SI									
312												
313												
314	SI											
315												
316		SI										
317												
318												
319												
320												
321					SI							
322		SI										
323				SI								
324												
325												
326												
327												
328												
329												
330	SI											
331												
332												
333												
334												
335							SI		SI			
336												
337												
338							SI		SI		SI	
339												
340	SI	SI	SI									
341		SI	SI									
342				SI								
343		SI	SI									
344												
345												
346		SI										
347		SI	SI									
348												
349	SI	SI										
350	SI											
351		SI										
352		SI										
353		SI										
354							SI					