

S. Lavín
F.J. Mora
L. Viñas

Análisis cuantitativo
del *buffy coat* en medicina
veterinaria canina

U.D. Patología General y Médica.
Laboratorio de Hematología.
Facultad de Veterinaria.
Universidad Autónoma
de Barcelona.
08193 Bellaterra
(Barcelona).

RESUMEN

En el presente trabajo se evalúa la utilidad clínica del análisis cuantitativo del *buffy coat* mediante el Sistema QBC-V para su uso en Medicina Veterinaria canina. Se compara el Sistema QBC-V frente al método manual de referencia en 100 muestras de sangre de perro.

Los resultados obtenidos indican que existe una correlación muy elevada para el valor hematocrito y el recuento de leucocitos y granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos), elevada para el recuento de agranulocitos (linfocitos y monocitos) y baja para las plaquetas.

PALABRAS CLAVE

Perro; Hematología; *Buffy coat*.

ABSTRACT

This study evaluates the clinical utility value of the "buffy coat" quantitative analysis by means of the QBC-V system for canine Veterinary Medicine purposes. The QBC-V system is compared with the reference manual method in the blood samples of 100 dogs.

The results obtained show that the height of the "buffy coat" correlates very highly with the haematocrit value, total leucocyte and granulocyte (neutrophils, eosinophils and basophils) count, highly with the agranulocyte (lymphocytes and monocytes) count and lowly with the platelets count.

KEY WORDS

Dog; Haematology; "Buffy coat".

166 INTRODUCCION

El análisis cuantitativo del *buffy coat* se basa en la medida del espesor de la capa de leucocitos y de plaquetas después de centrifugar la sangre obtenida con un anticoagulante, ya que las células se reparten según su peso específico⁽⁵⁾.

Existe en el mercado un sistema para cuantificar el *buffy coat*, mediante el cual podemos determinar el valor hematocrito, el número de leucocitos y el de plaquetas, así como el número y porcentaje de granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y agranulocitos (linfocitos y monocitos). Este sistema se diseñó en un principio para trabajar con sangre humana, pero en la actualidad se puede utilizar con sangre de perro, gato o caballo; aunque ha sido valorado en estas especies por diferentes autores⁽¹⁻⁴⁾, los resultados publicados son bastante dispares.

Con este trabajo, pretendemos evaluar la exactitud y precisión del sistema QBC V para su utilización con sangre de perro comparando los resultados obtenidos mediante este sistema con los obtenidos por el método manual de referencia. Todos los análisis se realizaron en nuestro laboratorio de hematología.

MATERIAL Y METODOS

Animales

El trabajo se realizó en 100 perros sanos y enfermos, de diferentes razas, edades y estado fisiológico.

Muestras

Las muestras de sangre fueron obtenidas por punción en la vena cefálica, en tubos comerciales (2,5 ml) con EDTA K₃.

Análisis

Los análisis se efectuaron antes de transcurrir dos horas de la extracción de las muestras.

Método de referencia:

- V. hematocrito. Método del microhematocrito.

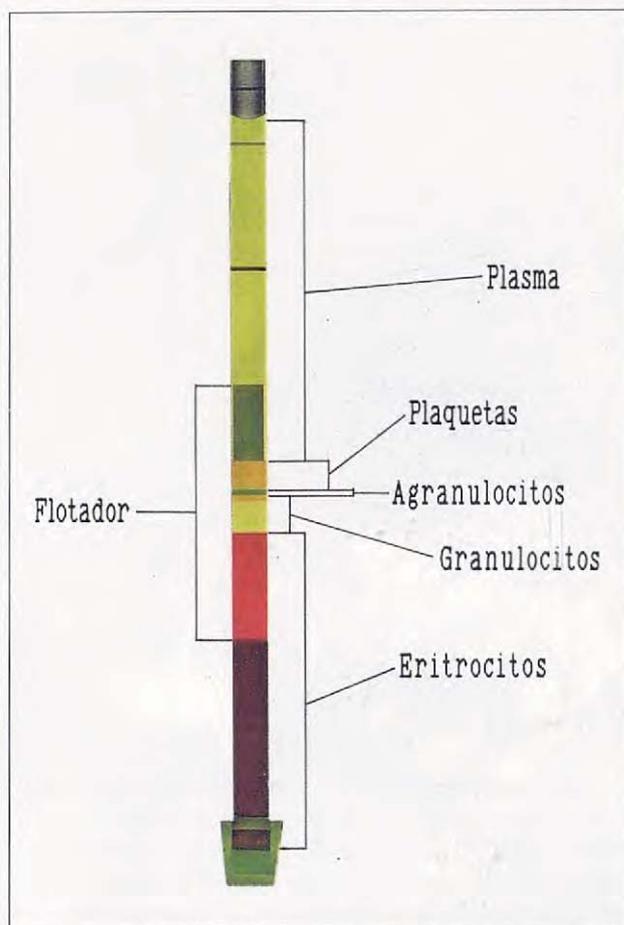


Figura 1. Coloración de las distintas capas celulares después de la centrifugación del tubo capilar del QBC V.

- Leucocitos. Dilución de la muestra con líquido de Turck y posterior recuento en cámara de Neubauer.
- Granulocitos y agranulocitos. Fórmula leucocitaria sobre 100 células.
- Plaquetas. Dilución de la muestra (Plaquet-CROM) y recuento en cámara de Neubauer.

Sistema QBC V:

El sistema está formado por tubos capilares, pipeta automática, centrífuga y aparato de lectura. El tubo capilar de alta precisión (1.683 mm de diámetro interior) se llena de sangre (111 μ) con ayuda de la pipeta y el extremo libre se cierra con un capuchón de plástico. En el otro extremo se introduce un flotador de plástico (1.596 mm de diámetro exterior) de densidad crítica con el fin de expandir la capa celular

Tabla 1 Exactitud. Comparación entre los valores obtenidos mediante el QBC V y el método manual de referencia

Parámetro	Unidades	Número de animales	r
V. hematocrito	%	100	0,99
Leucocitos	$\times 10^3/\mu\text{l}$	100	0,95
Granulocitos	$\times 10^3/\mu\text{l}$	100	0,93
Agranulocitos	$\times 10^3/\mu\text{l}$	95	0,76
Plaquetas	$\times 10^3/\mu\text{l}$	90	0,58

r: coeficiente de correlación de Pearson

comprendida entre los eritrocitos y el plasma (*buffy coat*) y poder diferenciar las distintas capas de células una vez centrifugado el tubo durante 5 minutos a 12.000 rpm.

La parte interior del tubo está recubierta con oxalato potásico y un anticuerpo monoclonal para facilitar la separación de los hematíes y leucocitos, y naranja de acridina para diferenciar las distintas capas que se separan según su densidad como se indica en la figura 1.

El lector consta de un micrómetro electrónico que permite medir las longitudes de las bandas moviendo los tubos longitudinalmente. Las longitudes de las bandas se transforman en unidades de medida habituales en hematología clínica. Los resultados que aparecerán en la pantalla son los siguientes:

Valor hematocrito (%)

Recuento de leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$)

Recuento de granulocitos y agranulocitos (% y $\times 10^3/\mu\text{l}$)

Recuento de plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{l}$)

Estudio estadístico

Mediante ordenador se determinó:

- Exactitud. Coeficiente de correlación de Pearson.
- Precisión. Coeficiente de variación.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos en este trabajo están indicados en las tablas 1 y 2.

La mayor parte de los valores obtenidos se encontraban dentro del intervalo que indica el fabricante

Tabla 2 Precisión del QBC V. 10 muestras procesadas 10 veces cada una por el mismo técnico

Parámetro	CV
V. hematocrito	1,8%
Leucocitos	6,5%
Granulocitos	6,3%
Agranulocitos	13,2%
Plaquetas	8,6%

CV: coeficiente de variación

del QBC V, en el cual los resultados son totalmente fiables:

Valor hematocrito	15-60	%
Recuento de leucocitos	2-30	$\times 10^3/\mu\text{l}$
Recuento de granulocitos	0,02-29,7	$\times 10^3/\mu\text{l}$
Recuento de agranulocitos	0,02-29,7	$\times 10^3/\mu\text{l}$
Recuento de plaquetas	50-700	$\times 10^3/\mu\text{l}$

Hemos encontrado una correlación muy alta entre el QBC V y el método manual de referencia para el valor hematocrito; $r=0,99$ (Fig. 2), el número de leucocitos; $r=0,95$ (Fig. 3) y el porcentaje y número de granulocitos; $r=0,93$ (Fig. 4). Sin embargo, para el porcentaje y número de agranulocitos, la correlación no es alta; $r=0,76$ (Fig. 5), hecho que coincide con los valores obtenidos por otros autores^(2, 4).

En todos los casos, se ha diferenciado bien la banda de granulocitos, y cuando el porcentaje de eosinófilos en la muestra era superior al 10% se observaba una banda dentro de ésta que se correspondía con los eosinófilos y que podía ser cuantificada. En cinco muestras, la banda de agranulocitos no se podía diferenciar.

El coeficiente de correlación observado para las plaquetas; $r=0,58$ (Fig. 6) es bajo y coincide con lo indicado por Levine y col.⁽⁴⁾, mientras que otros autores⁽¹⁻³⁾ obtienen valores muy superiores ($r>0,90$). En diez muestras, no se pudo valorar el número de plaquetas mediante el QBC V por agregarse en la parte superior del flotador o por no poder diferenciar la banda debido posiblemente a que los agregados se acumulaban en la parte inferior del flotador. Esta circunstancia ya ha sido indicada^(3, 4) y en el primer caso se detecta fácilmente al

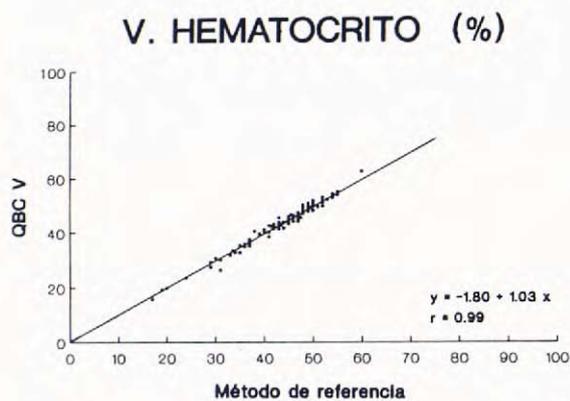


Figura 2. Correlación entre el método de referencia y el Sistema QBC V. Valor hematocrito (n= 100).

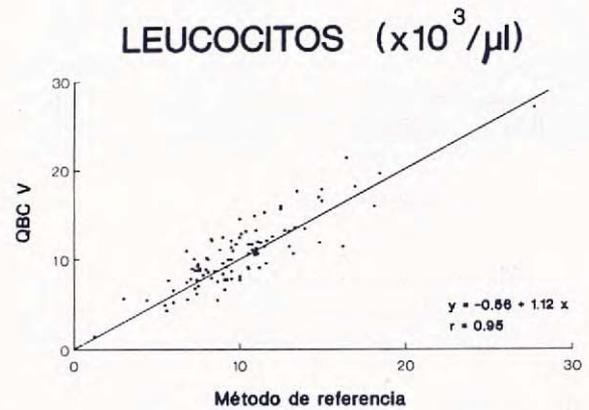


Figura 3. Correlación entre el método de referencia y el Sistema QBC V. Recuento de leucocitos (n= 100).

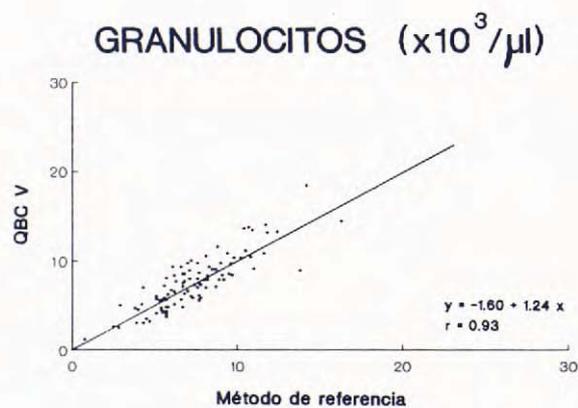


Figura 4. Correlación entre el método de referencia y el Sistema QBC V. Recuento de granulocitos (n= 100).

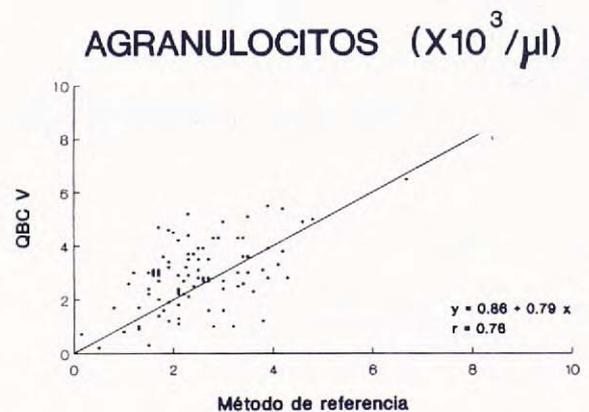


Figura 5. Correlación entre el método de referencia y el Sistema QBC V. Recuento de agranulocitos (n= 95).

examinar el tubo capilar antes de su lectura, pudiendo evitarse en parte si se obtienen las muestras con el

máximo cuidado⁽⁴⁾. Por otra parte, hay que indicar que las plaquetas en el perro presentan en condiciones

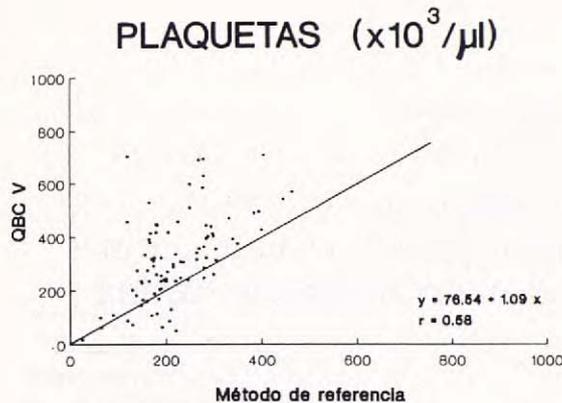


Figura 6. Correlación entre el método de referencia y el Sistema QBC V. Recuento de plaquetas ($n = 90$).

normales grandes diferencias en tamaño, circunstancia que hemos podido observar al estudiar el frotis de sangre teñido, lo que influye en que la correlación no sea muy alta.

La precisión (Tabla 2) es aceptable en todos los casos, excepto en el porcentaje y número de agranulocitos que es alta ($cv = 13,2\%$). Estos valores coinciden con los indicados por otros autores^(3, 4).

Podemos concluir indicando que la cuantificación del *buffy coat* mediante el sistema QBC V es un método rápido, sencillo de manejo y suficientemente fiable para determinar el valor hematocrito, número de leucocitos, porcentaje y número de granulocitos y agranulocitos, mientras que el recuento de plaquetas hay que interpretarlo con sumo cuidado.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Brown SA and Barsanti JA. Quantitative buffy coat analysis for hematologic measurements of canine, feline and equine blood samples and for detection of microfilaremia in dogs. *Dog J Vet Res* 1988;**49**:321-324.
- 2 Creppi G, Cavallone E, Mantelli F y Sommariva M. Ematologia a colori in ambulatorio. *Scienza Veterinaria* 1989;**8**:3-6.
- 3 Guelfi JF y Julie P. Profil hématologique par analyse quantitative du "buffy coat" (QBC) chez le chien, le chat et le cheval. *Pra Méd Chir An Comp* 1989;**24**:485-491.
- 4 Levine RA, Hart AH and Wardlaw SC. Quantitative buffy coat analysis of blood collected from dogs, cats and horses. *J Am Vet Med Ass* 1986;**189**:670-673.
- 5 Wintrobe MM. Macroscopic examination of the blood. *Am J Med Sci* 1933;**185**:58-71.