



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA NATURALEZA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA
CARRERA MEDICINA VETERINARIA
SEDE CONCEPCIÓN**

**EVALUACIÓN DE NIVELES SÉRICOS DE FIERRO EN GATOS
ADULTOS CON ANEMIA DEL HCV-USS SEDE CONCEPCIÓN**

Memoria de título para optar al título de Médico Veterinario

Profesor Tutor: MCs Antonio Esteban Bizama Reyes MV

Profesor Guía Metodológico: T.M. Juan Gonzalo Monroy Mejías

Estudiante: Paola Alejandra Contreras Jara

Concepción, Chile

2023

© Paola Contreras Jara, Antonio Bizama Reyes.

Queda prohibida la reproducción parcial o total de esta obra en cualquier forma, medio o procedimiento sin permiso por escrito del o los autores.

Concepción, Chile

2023

CALIFICACIÓN DE LA MEMORIA

En Concepción, el 14 julio de 2024, los abajo firmantes dejan constancia de que la alumna Paola Contreras Jara de la carrera de Medicina Veterinaria ha aprobado la memoria para optar al título de Médico Veterinario con nota 5,3



M.Cs Mónica Araya Opitz
Profesor Evaluador



DR. EDSON MONTERO MCA
Médico Veterinario
RUT: 9.822.591 - 9

M.Cs Edson Montero Cabrera
Profesor Evaluador



Dr. Antonio Bizama Reyes
Médico Veterinario MSc.
RUT: 11.898.320 - 3

M.Cs Antonio Bizama Reyes
Profesor Patrocinante

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a **Dios** principalmente por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y mi júbilo en mi felicidad.

Le doy gracias a mi madre **Elizabeth** por enseñarme lo que es el amor incondicional, por apoyarme en todo momento, por enseñarme a ser fuerte, perseverante y sabia, por ser la luz que guía mi camino, agradezco de lo más profundo de mi corazón que me haya permitido poder estudiar esta hermosa carrera “Medicina Veterinaria”.

A mis hermanas **Karina** y **Jennifer** por ser una parte fundamental en mi vida y apoyarme en este largo trayecto lleno de desafíos, agradezco sus sonrisas, su constante alegría, sus palabras de aliento.

Agradezco sinceramente a mis amigos **Morgan**, **Benjamín** y **Luis** por su inquebrantable amistad y paciencia. Su compañía en el trayecto de mi vida ha sido un faro de luz en los días oscuros y una fuente constante de alegría en los buenos momentos. Su amistad ha sido un regalo invaluable que atesoro profundamente. Gracias por estar siempre.

Le agradezco a mis profesores guías, **Antonio Bizama** y **Juan Monroy** quienes dedicaron su tiempo, confianza, apoyo y sabiduría para la realización de esta memoria.

Agradezco a mis queridas mascotas, mi gata **Hyuna** y mi perro **Tobbi**, El amor incondicional que me brindan ha sido un apoyo invaluable en los momentos más difíciles. Agradezco este hermoso vínculo especial que compartimos.

Finalmente agradezco a todo quien que lea este apartado de mi memoria.

TABLE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS.....	IV
ÍNDICE DE FIGURAS	V
RESUMEN.....	VI
ABSTRACT.....	VII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.- Eritropoyesis	2
1.2.- Anemia	3
1.3.- Clasificación de anemia según regeneración en médula ósea.....	4
1.4.- Tipos de anemia regenerativa.....	4
1.4.1.- Anemia hemorrágica	4
1.4.2.- Anemia hemolítica.....	5
1.5.- Tipos de anemias no regenerativas	5
1.5.1.- Anemia por enfermedad renal crónica	5
1.5.2.- Anemia por enfermedad inflamatoria crónica.....	5
1.5.3.- Anemia por enfermedades infecciosas	6
1.5.4.- Anemia por deficiencia de hierro	6
1.6.- Hierro.....	6
1.6.1.- Distribución y absorción	7

1.6.2.- Regulación	7
1.6.3.- Pérdidas	7
2. HIPÓTESIS	9
3. OBJETIVOS	10
3.1.- Objetivo general	10
3.2.- Objetivos específicos	10
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
4.1.- Material fungible.....	11
4.2.- Material no fungible	11
4.3.- Tamaño muestral	12
4.4.- Criterio de inclusión	12
4.5.- Criterio de exclusión.....	12
4.6.- Obtención de las muestras	13
4.7.- Procesamiento de las muestras de sangre felina	13
4.8.- Presentación de los datos.....	15
4.9.- Análisis estadístico.....	15
5. RESULTADOS.....	16
6. DISCUSIÓN.....	20
7. CONCLUSIÓN	24

8. REFERENCIAS..... 25

9. ANEXOS 30

 Anexo 1: Consentimiento informado 30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resumen de resultados de los parámetros obtenidos.....	17
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Se comparan los niveles séricos de fierro expresado en $\mu\text{g/dL}$ en gatos anémicos con los rangos de referencia publicado en la literatura internacional (Laboratorio de patología clínica, 2017)19

Figura 2. Se comparan los niveles de fierro en felinos domésticos con anemia regenerativa y no regenerativa.20

RESUMEN

Introducción: El hierro es un mineral esencial para el organismo, debido a su importante rol biológico entre los cuales destacan; el transporte de oxígeno que realiza el grupo HEM, el cual lo fija, y de ahí su destacada participación en la eritropoyesis. La anemia por deficiencia de hierro está dada por diferentes causas, entre ellas se encuentran las hemorragias crónicas o por enfermedades inflamatorias autoinmunes; este tipo de anemia es tipificada, desde el punto de vista hematológico, como una anemia microcítica e hipocrómica. Se propone medir los niveles de hierro sérico en gatos anémicos, debido a la importancia de este elemento en el proceso de eritropoyesis y la información que aporta en referencia a la respuesta contra la anemia.

Objetivos: El presente estudio tiene como objetivo evaluar niveles séricos de hierro en muestras sanguíneas de gatos adultos anémicos atendidos en el Hospital Clínico Veterinario de la Universidad San Sebastián (HCV-USS), Sede Concepción.

Materiales y métodos: La población de estudio incluyó un total de 15 muestras de sangre provenientes de felinos adultos bajo el diagnóstico de anemia, recibidas y almacenadas en la unidad de laboratorio Clínico en que se analizó hemograma completo, se determinó el valor de Índice Reticulocitario y se evaluó los niveles de hierro sérico en cada una de las muestras, se utilizó prueba t para la hipótesis y prueba U de Mann-Whitney para pruebas no paramétricas.

Resultados: Los resultados de esta investigación demostraron que, los niveles de hierro sérico en gatos adultos con anemia dieron lugar a diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) con respecto a los valores entregados por la literatura. Por ende 66,6% de la población de estudio fue diagnosticado con ferropenia.

Conclusión: Se obtuvieron muestras significativas al evaluar los niveles séricos en pacientes felinos domésticos, por ende, se rechaza la hipótesis nula.

Palabras claves: Hierro, anemia felina, hematopoyesis, deficiencia de Hierro.

ABSTRACT

Introduction: Iron is an essential mineral for the organism, due to its important biological role, among which the following stand out: the transport of oxygen carried out by the HEM group, which fixes it, and hence its important participation in erythropoiesis. Iron deficiency anemia is due to different causes, among them are chronic hemorrhages or autoimmune inflammatory diseases; this type of anemia is typified, from the hematological point of view, as a microcytic and hypochromic anemia. It is proposed to measure serum iron levels in anemic cats, due to the importance of this element in the erythropoiesis process and the information it provides in reference to the response against anemia.

Objectives: The aim of the present study was to determine serum iron levels in blood samples of anemic adult cats attended at the Clínica Veterinaria Universidad San Sebastián (HCV-USS), Sede Concepción.

Materials and methods: The study population included a total of 15 blood samples from adult felines diagnosed with anemia, received and stored in the clinical laboratory unit where a complete blood count was analyzed, the Reticulocyte Index value was determined and serum iron levels were evaluated in each of the samples, t-test for the hypothesis and Mann-Whitney U-test for non-parametric tests were used.

Results: The results of this investigation showed that serum iron levels in adult cats with anemia resulted in statistically significant differences ($p < 0.05$) with respect to the values reported in the literature. Thus 66.6% of the study population was diagnosed with iron deficiency.

Conclusions: Significant samples were obtained when evaluating serum levels in domestic feline patients, therefore, the null hypothesis is rejected.

Keywords: iron, anemia feline, hematopoiesis, iron deficiency

1. INTRODUCCIÓN

El hemograma es el examen que estudia o analiza los componentes sanguíneos, siendo uno de los exámenes más solicitados en clínica de pequeños animales, ya que ayuda a complementar el diagnóstico clínico (Arauz et al., 2020).

La sangre es un tejido que está compuesto por una parte líquida que se denomina plasma y otra parte sólida que contiene glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas. Una de las principales funciones que cumple, es el transporte de nutrientes y oxígeno hacia los diferentes tejidos y órganos periféricos (Pattullo et al., 2014).

Alcántara et al. (2015) indican que las células sanguíneas tanto para la línea blanca como para la serie roja, se originan mediante un proceso que ocurre en la médula ósea denominado hematopoyesis. Este proceso deriva de células precursoras multipotenciales que da origen a células progenitoras oligopotenciales, como las unidades formadoras de colonia (UFC-GEMM) que dan origen a células de la línea blanca (basófilos, eosinófilos, neutrófilos y monocitos) y unidades formadoras de ráfaga (UFR) que son las células progenitoras que sintetizan más de una subcolonia, esta última da origen a las plaquetas y eritrocitos.

1.1.- Eritropoyesis

Es la formación de glóbulos rojos en donde la médula ósea está en constante funcionamiento para crear estas células dado que debe existir un equilibrio entre los eritrocitos sintetizados y los fagocitados (Pattullo et al, 2014). Su síntesis comienza desde una célula precursora, que da origen a subdivisiones de células las cuales al madurar cambian morfológicamente hasta convertirse en una célula eritrocitaria (célula anucleada, de menor tamaño y color rojo) (Scodellaro et al, 2006), todo este proceso es regulado por una hormona llamada eritropoyetina (EPO) (Langston et al., 2003).

El reticulocito o policromatófilo es una célula desarrollada en la penúltima fase de la eritropoyesis. Se identifica morfológicamente como una célula anucleada, de mayor diámetro y tamaño que el eritrocito maduro, que además presenta ARN ribosomal que puede ser teñido de azul con la tinción de Wright-Giemsa, dándole un color púrpura (este cambio en su afinidad tintorial le confiere el nombre de policromatófilo) (Pattullo et al., 2014). En felinos existen dos tipos de reticulocitos, agregata y punctata (Paltrinieri et al., 2018). Según Scodellaro et al. (2006) el índice reticulocitario se define como el porcentaje de reticulocitos corregidos divididos por la cantidad estimada de días en circulación.

El índice reticulocitario es uno de los marcadores de la actividad eritropoyética de la médula ósea y cuyo valor se mide en porcentaje y el rango es de 0.5 - 2% el cual se considera anemia regenerativa y menor a esto se considera no regenerativa (arauz, 2008).

Cuando estas células envejecen como consecuencia a injurias, acción de radicales libres, funcionamiento y desgaste metabólico, son fagocitados por el sistema fagocítico mononuclear (SFM). Luego de ser fagocitados por macrófagos esplénicos (secundariamente por células de von Kupffer del hígado y macrófagos de la médula ósea), los eritrocitos son eliminados mediante lisis celular. En condiciones normales los

eritrocitos tienen una vida media de aproximadamente 70-78 días en gatos (Meder et al., 2012).

1.2.- Anemia

La baja de glóbulos rojos a nivel sanguíneo es denominada anemia, esto desde el punto de vista hematológico es reflejado como una disminución en los intervalos de hemoglobina, valor de hematocrito y recuento de eritrocitos. Es producto de una pérdida excesiva de glóbulos rojos por hemorragias, traumatismos agudos, inflamación o problema de la generación de glóbulos rojos, anomalía en la hematopoyesis, enfermedad renal crónica, etc (Scodellaro et al., 2006). Existen índices eritrocitarios, sin embargo estos índices muchas veces no están relacionados a anemia, ya que, se puede tener anemias normocíticas y normocrómicas pero estas siguen siendo morfológicamente normales (Torino et al., 2015).

El hematocrito (HTO) se define como la cantidad de eritrocitos que contiene una muestra de sangre (Bush, 1999). Los rangos de referencia para HTO en felinos son de 30 – 40 y se mide en porcentaje (Betting et al., 2022). Cuando el valor del HTO se encuentra bajo este intervalo se consideran gatos anémicos y se requiere conocer de los valores de respuesta reticulocitaria (Chuya, 2022).

El volumen corpuscular medio (VCM) mide el tamaño y el volumen de la media de los glóbulos rojos individuales, el cual se expresa en femtolitros (fl). Los intervalos normales en felinos son de 39 a 50 fl, cuando el valor de este se encuentra sobre los intervalos se denomina macrocitosis y cuando se encuentra bajo los intervalos se denomina microcitosis (Aguiló 2001).

La concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) mide la concentración media de hemoglobina en los eritrocitos, el cual se expresa en gramos por decilitros (g/dl). Su rango normal en felinos es de 30 a 38 g/dl (Arauz, 2008).

1.3.- Clasificación de anemia según regeneración en médula ósea

De acuerdo a la respuesta de la médula ósea, las anemias se clasifican en dos tipos; anemia regenerativa que es caracterizada por una respuesta apropiada de la médula ósea incrementando la producción de eritrocitos para compensar la pérdida de estos, ya sea por hemorragias o hemólisis (Chu et al., 2014); y por el contrario, en la anemia no regenerativa la médula ósea es incapaz de producir una respuesta, esto puede ser debido a un déficit de algunos de los componentes para la formación de nuevos glóbulos rojos, como lo son el hierro, vitamina b12 y causas autoinmunes o neoplásicas (Winzelberg y Hohenhaus, 2019).

1.4.- Tipos de anemia regenerativa

1.4.1.- Anemia hemorrágica

La anemia hemorrágica puede ser de carácter aguda o crónica; las hemorragias agudas pueden ser debido a traumatismos, cirugías, déficit de vitamina K (Kohn, 2015). Las hemorragias crónicas por su parte pueden ser producto de sangrados gastrointestinales, hemoparásitos, hematuria y neoplasias (Naigamwalla et al., 2012). Cuando el organismo se ve enfrentado a una hemorragia de curso crónico al comienzo es regenerativa pero mientras la cronicidad de esta se desarrolla la anemia comienza a ser gradualmente una anemia no regenerativa, puesto que al cursar por una pérdida de sangre crónica las reservas de hierro comienzan a disminuir por lo que reduce la síntesis de eritrocitos (Villiers y Blackwood, 2005; Villiers y Blackwood, 2013).

1.4.2.- Anemia hemolítica

La anemia hemolítica es el resultado de un aumento en la destrucción de los glóbulos rojos, puede ser ocasionado por enfermedades infecciosas o inmunomediadas. Los microorganismos específicos que producen este tipo de anemia son; virus de la leucemia felina (FeLV), histocitosis sistémica maligna, *Mycoplasma haemofelis*. Además, pueden ser producto de fármacos como las cefalosporinas y quimioterapéuticos. En este tipo de anemia se observa una reticulocitosis marcada (Willard et al., 1994).

1.5.- Tipos de anemias no regenerativas

1.5.1.- Anemia por enfermedad renal crónica

Es una de las enfermedades más frecuente en gatos y está directamente relacionada con la disminución de la eritropoyetina (EPO), ya que la enfermedad renal crónica inhibe la función del riñón para sintetizar la EPO en respuesta a una hipoxia tisular. Otra de las causas de la anemia es la disminución en la vida media de los eritrocitos debido a las toxinas urémicas (Winzelberg y Hohenhaus, 2019).

1.5.2.- Anemia por enfermedad inflamatoria crónica

Se debe a diferentes causas tales como: infecciones, traumas, inflamaciones crónicas o neoplásicas. La anemia es producida mediante la liberación prolongada de citoquinas. Los cambios que se presenta en respuesta a una de estas causas anteriormente mencionadas son: disminución de la producción de EPO, cambios en las concentraciones de hierro plasmáticos y reducción en la proliferación de las células progenitoras de glóbulos rojos, por ende, disminuye la vida útil de éstos (Ottenjann et al., 2006).

1.5.3.- Anemia por enfermedades infecciosas

Son ocasionada por virus y hemoparásitos, los más comunes en felinos domésticos son el virus de la leucemia felina (FeVL) y el virus de la inmunodeficiencia felina (VIF), ocasionando deficiencia de los centros hematopoyéticos debido a los efectos supresores de los retrovirus en la médula ósea. Por otra parte, la anemia también se puede producir debido a la inflamación crónica que presenta este tipo de enfermedad, puesto que presentan altos niveles de la producción de citoquinas (Hartmann, 2011).

1.5.4.- Anemia por deficiencia de hierro

Dentro de las anemias no regenerativas se encuentra la anemia por déficit de hierro la cual se caracteriza por ser una anemia microcítica e hipocrómica (Keiner et al., 2020). Puede ser causada por una gran pérdida de sangre o disminución en la fuente nutricional de hierro, pero la mala nutrición con hierro en animales de compañía es poco común (Case et al., 2010), al ser alimentados por alimentos comerciales (Naigamwalla et al., 2012), o por una baja en la formación de la hemoglobina (Aceña y Gascón, 2001). Uno de los marcadores específicos para detectar anemias por deficiencia de hierro es el índice reticulocitario (Prins et al., 2009). Según Meder et al. (2012); los valores normales de índice de reticulocitos en felinos son igual a 0.5 y se mide en porcentaje.

1.6.- Hierro

El hierro es un mineral que forma parte del grupo Hemo, utilizado en la síntesis de la hemoglobina, ayuda al transporte de oxígeno, a la formación de nuevos glóbulos rojos y de nuevas enzimas. Cuando tenemos una deficiencia de este mineral tan importante, los eritrocitos son los que se ven más afectados debido a que ocupan una gran cantidad de hierro en su desarrollo (McCown y Specht, 2011).

1.6.1.- Distribución y absorción

La hemoglobina es la molécula que contiene la mayor cantidad del hierro, mientras que en citocromos y mioglobina se encuentra en cantidades menores (Naigamwalla et al., 2012). Es ingerido a través de la dieta mediante alimentos de origen animal, absorbido en el intestino delgado proximal para posteriormente ser transportado en el plasma unido a la transferrina que es una proteína transportadora (Winzelberg y Hohenhaus, 2019). Cuando el hierro pasa a circulación es liberado en la médula ósea para la eritropoyesis, una vez terminado su vida útil, la hemoglobina es catabolizada para reutilizar el hierro y ser almacenado como ferritina o hemosiderina (Naigamwalla et al., 2012).

1.6.2.- Regulación

La regulación del hierro está dada por una hormona denominada hepcidina. Esta hormona en niveles altos de hierro evita la captación de este para mantener la homeostasis, además existen otras vías de excreción del hierro; a través de la orina y las heces (McCown y Specht, 2011).

1.6.3.- Pérdidas

Las pérdidas patológicas de hierro pueden deberse a diferentes causas, según indican Winzelberg y Hohenhaus (2019), anemias generadas por traumatismos agudos como menciona Escobar et al. (2015), deficiencias de hierro por enfermedades hemolíticas inmunomediadas felinas, como lo son la micoplasmosis felina y el virus de la leucemia felina (FeLV) (Kohn et al., 2006). Aguiló (2001) describe que se debe a una absorción disminuida de este mineral. Además, Winzelberg y Hohenhaus (2019) expresan que las pérdidas de hierro se deben a infestaciones grandes de parásitos externos como lo es la pulga en los felinos.

Por lo expuesto anteriormente el rol que cumple el fierro en la hematopoyesis es fundamental y por lo tanto las enfermedades que cursan con la pérdida de este mineral tiene un alto impacto a nivel hematológico, pero no es habitual la solicitud por parte de clínicos de animales de compañía la evaluación de este mineral. Por lo tanto, surge la interrogante. ¿Será relevante la deficiencia de fierro en felinos adultos que llegan con anemia?

2. HIPÓTESIS

H0: No existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles séricos de fierro en las muestras analizadas provenientes de gatos adultos anémicos del HCV-USS y los rangos de referencia publicados en la literatura de consulta (Laboratorio de patología clínica, 2017).

HA: Existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles séricos de fierro en las muestras analizadas provenientes de gatos adultos anémicos del HCV-USS y los rangos de referencia publicados en la literatura de consulta (Laboratorio de patología clínica, 2017).

3. OBJETIVOS

3.1.- Objetivo general

Evaluar niveles séricos de fierro en muestras de sangre obtenidas de gatos anémicos adultos atendidos en el Hospital Clínico Veterinario de la Universidad San Sebastián (HCV-USS), sede Concepción.

3.2.- Objetivos específicos

1. Clasificar los tipos de anemia observados a partir de la respuesta eritropoyética de la médula ósea.
2. Cuantificar los niveles séricos de fierro para anemias regenerativas y anemias no regenerativas.
3. Establecer si existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de fierro de los distintos grupos analizados y literatura de consulta (Laboratorio de patología clínica, 2017).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio corresponde a un estudio correlacional y observacional, que evalúa los niveles séricos de hierro a partir de muestras de sangre de gatos adultos anémicos que son recibidas en el Laboratorio Clínico del Hospital Clínico Veterinario de Universidad San Sebastián (HCV – USS) sede concepción, entre los meses de enero a mayo 2023.

4.1.- Material fungible

- Tubo tapa lila conteniendo ETDA, Etilendiaminotetraacético.
- Tubo tapa amarillo conteniendo gel separador.
- Portaobjeto.
- Aceite de inmersión Merck.
- Reactivo Ferrozima Human®.
- Tinción Azul Cresil Brillante.
- Tinción Diff- Quick Merck.
- Tubos de vidrio.
- Tubos Eppendorf.

4.2.- Material no fungible

- Contador Hematológico Genrui 6300 Vet.
- Micropipetas y pipetas automáticas volumen variable Human.
- Microscopio Olympus CX31.
- Agitador Orbital P Selecta Móvil-Rod.
- Programa Microsoft Excel® (2010).
- Paquete estadístico IBM® SPSS® Statistics v. 25 (2017).
- Computador con conexión a internet.

- Centrífuga de sobremesa Hettich modelo Rofix 32.
- Estufa de incubación Binder.
- Refrigerador Mademsa MR 350. 220 (V), 50 (Hz).
- Consentimiento informado.
- Formulario de Comité institucional de ética en cuidado y uso de animales en investigación (CECUA).

4.3.- Tamaño muestral

El tamaño muestral se determina mediante un muestreo por conveniencia, utilizando 15 muestras de sangre de gatos domésticos con anemia que se atienden en el Hospital Clínico Veterinario San Sebastián (HCV – USS) sede Concepción.

4.4.- Criterio de inclusión

En el estudio se incluyen:

- Muestras de sangre de ejemplares felinos domésticos, hembras y machos que se presentaron al HCV – USS, sede Concepción, con hematocrito inferior a 30% entre los meses de enero a mayo 2023.
- Muestras de sangre de gatos con hematocrito inferior a 30% desde los 12 meses de edad hasta los 8 años.
- Muestras de sangre de hembras felinas no preñadas ni en periodo de lactancia.

4.5.- Criterio de exclusión

Se excluyen en el presente estudio:

- Muestras de sangre de ejemplares felinos domésticos, hembras y machos menores de 12 meses y mayores de 8 años.

- Muestras sangre de gatos domésticos con valores de hematocrito iguales o superiores a 30%.
- Muestras de sangre de hembras felinas preñadas o en periodo de lactancia.
- Aquellas muestras que presenten coágulos o cualquier otra condición que altere su análisis.
- Muestras de más de 24 horas sin refrigerar o congelar.

4.6.- Obtención de las muestras

Las muestras de sangre se obtienen del HCV-USS, sede concepción mediante la sujeción del paciente externalizando la vena cefálica o vena yugular (Day et al., 2012) se extraen 5 ml de sangre en donde 2 ml son para el tubo de tapa lila conteniendo EDTA y 3 ml para el tubo de tapa amarilla conteniendo gel separador, estas muestras son recibidas y conservadas en el Laboratorio Clínico previamente rotuladas con el número de ficha de cada paciente para su procesamiento en un rango de 1 – 24 horas refrigerada a 6°C para el hemograma y un rango de 4 días si es refrigerada a 4°C o 3 meses si es congelada a -16°C para el análisis de fierro sérico (SERNAC, 2021).

4.7.- Procesamiento de las muestras de sangre felina

Una vez recibidas las muestras de sangre, cada una de ellas se conservan a una temperatura de 6°C hasta su procesamiento (Refrigerador Mademsa MR 350. 220 (V), 50 (Hz)). La muestra del tubo tapa Lila ETDA se homogeneiza por el equipo Agitador Orbital P Selecta Movil-Rod durante 5 minutos, posteriormente en el Contador Hematológico Genrui 6300 Vet la muestra es procesada para determinar todos los parámetros hematimétricos del hemograma. Además, se ejecuta la técnica de frotis sanguíneo y tinción según menciona Neel (2013), este indica que se debe secar a temperatura ambiente por un intervalo de tiempo de 30 minutos, posteriormente es teñida con tinción Diff- Quick y es secada a 37°C por 10 minutos para evaluar el tamaño,

morfología y coloración de los glóbulos rojos en el Microscopio Olympus CX31 con objetivo de 100X.

Para determinar el índice reticulocitario, se mezclan en un tubo de vidrio volúmenes equitativos de 50 µl de sangre proveniente del tubo tapa lila y colorante Azul Cresil Brillante. Se homogeniza esta mezcla suavemente y luego es sometida a una incubación de 37°C por un intervalo de tiempo de 30 minutos en estufa de incubación BINDER. Concluido este tiempo, se efectúa una extensión celular en portaobjeto nuevo, se seca a temperatura ambiente por 30 minutos y se procede a continuación a su análisis microscópico. Se revisan 1000 células eritrocitarias, incluyendo en el conteo todas aquellas que muestren precipitado teñido en distinta cantidad en forma parcial o total sobre la superficie celular. Esta célula, es considerada como reticulocito y forma parte del porcentaje de reticulocitos encontrado sobre las 1000 células eritrocitarias indicadas. Este porcentaje es considerado el Índice Reticulocitario de la muestra analizada.

Siguiendo estrictamente las indicaciones detalladas anteriormente, se comparan los valores de índice reticulocitario encontrados con el rango de referencia normal en gatos domésticos y que, en este estudio, es entre 0.5% y 1.0% (Arauz, 2008). Posteriormente se clasifican las anemias de acuerdo con la respuesta eritropoyética de la médula ósea, estas son: anemias regenerativas cuando el intervalo de referencia sea mayor 0.5-2% y anemias no regenerativas cuando el intervalo de referencia sea menor a 0.5%.

Para determinar los niveles séricos de fierro, las muestras recolectadas en el tubo de tapa amarilla son centrifugadas a una velocidad de 3500 r.p.m por un intervalo de tiempo de 5 minutos. El suero obtenido es traspasado a tubo Eppendorf nuevo y almacenado a una temperatura de -16°C hasta el momento en que proceda su análisis. Las muestras totales del estudio obtenidas y congeladas son procesadas al mismo tiempo en su totalidad para validar los resultados bajo el mismo régimen de calibración de la metodología. El reactivo que es usado en la medición permite que el fierro presente en la

muestra reaccione con el reactivo Cromazurol y Cetyltrimethylamonibromuro para formar un complejo coloreado cuya intensidad de color es directamente proporcional a la cantidad de fierro que presenta la muestra. La lectura fotométrica es realizada a 623 nanómetros y los resultados calculados se expresan en $\mu\text{g/dL}$. Las muestras de suero son descongeladas por 30 minutos a temperatura ambiente previo al análisis. Se considera un volumen de suero descongelado de 50 μl para la medición de fierro en cada muestra, el rango de referencia utilizado es de 59-169 $\mu\text{g/dL}$.

4.8.- Presentación de los datos

Los resultados son presentados en una tabla Excel® en donde se incluye número de paciente, el volumen globular, el índice reticulocitario y los niveles de fierro sérico los cuales son analizados por medio del programa estadístico IBM® SPSS® Statistics v. 25.0.

4.9.- Análisis estadístico

Para determinar la normalidad de los datos se utiliza la prueba de bondad de ajuste Shapiro-Wilk, ya que se emplean menos de 50 muestras.

Los resultados no presentan una distribución normal por lo que se utiliza la prueba de U de Mann-Whitney para dos grupos, anemias regenerativas y anemias no regenerativas. Además, se utiliza la prueba t como test de hipótesis estadístico para evaluar la diferencia entre los niveles de fierro de las muestras analizadas y la bibliografía de referencia (Laboratorio de patología clínica, 2017).

5. RESULTADOS

En el presente estudio se miden los niveles de fierro sérico a través de técnicas de espectrofotometría en el Hospital clínico veterinario (HCV) de la Universidad San Sebastián (USS) sede Concepción de 15 gatos anémicos atendidos en el HCV, posteriormente se determina el índice reticulocitario para evaluar el grado de respuesta frente a la anemia. Estos pacientes cumplen los criterios de inclusión, los cuales consisten en: felinos macho y hembra entre 1 a 8 años, presentar un hematocrito menor a 30% y no haber signos de preñez ni lactancia.

A todos los gatos se les realiza la prueba de fierro sérico de los cuales diez (10) presentaron ferropenia, uno (1) de los gatos presenta hiperferremia y los cuatro (4) restantes presenta normoferremia.

Tabla 1. Resumen de resultados de los parámetros obtenidos.

Parámetros	Anemia no regenerativa				Anemia Regenerativa			
	Media	Des	Min	Max	Media	Des	Min	Max
Hematocrito	22.9	7.93	6.2	28	25.9	3.63	21.7	28
Ferremia	65.3	57.8	22.2	200.3	57.5	10.4	45.5	64
Índice reticulocitario	0.11	0.13	0.05	0.45	10.4	16.9	0.54	30

Se midió el hematocrito, la Ferremia y el índice reticulocitario en 15 gatos con anemia regenerativa y no regenerativa. Des: Desviación estándar, Min: mínimo, Max: máximo

Fuente: elaboración propia.

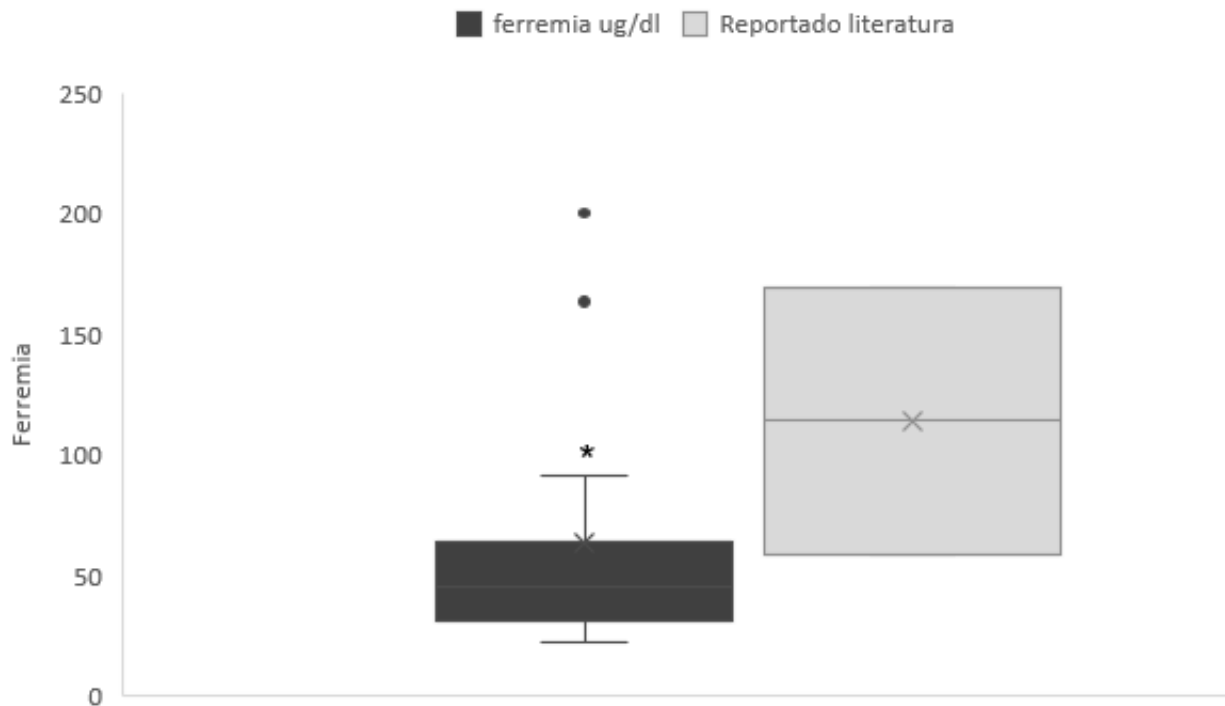
En la tabla 1 se pueden observar los resultados de las mediciones realizadas.

En las anemias no regenerativas los resultados obtenidos del hematocrito se expresan en porcentaje (%), los resultados indican que la desviación estándar es de 7.93, la media es de 22.9 el rango mínimo es de 6.2 y el máximo es de 28. Por el contrario, en las anemias regenerativas los resultados indican que la media de hematocrito en gatos anémicos es de 25.9, la desviación estándar es de 3.63 y los valores máximos son de 28 y sus valores mínimos son de 21.7. Para los niveles de Fierro, estos son expresados en microgramos/decilitros ($\mu\text{g/dl}$), la desviación estándar es de 57.8 en anemias no regenerativas y en las anemias regenerativas es de 10.4.

Se evalúa el índice reticulocitario de cada paciente, respecto al resultado, las anemias fueron clasificadas como anemias no regenerativas cuando el índice reticulocitario es $<0.5\%$ y como anemias regenerativas cuando el índice reticulocitario es $>0.5\%$. La desviación estándar para la anemia no regenerativa es de 0.13, la media es de 0.11, los valores máximos son de 0.45 y mínimos son de 0.05. por el contrario, para las anemias regenerativas los valores de desviación estándar son de 16,9, la media es de 10.4, el valor máximo fue de 30 y el mínimo fue de 0.54 en donde se observan más reticulocitos afirmando una respuesta eritropoyetica más elevada.

Al comparar los niveles de fierro obtenidos en la totalidad de gatos anémicos con la bibliografía internacional en donde el intervalo de referencia es 59-169 $\mu\text{g/dL}$ (Laboratorio de patología clínica, 2017), se puede observar diferencias significativas $*p<0.05$.

Figura 1. Se comparan los niveles séricos de hierro expresado en $\mu\text{g/dL}$ en gatos anémicos con los rangos de referencia publicado en la literatura internacional (Laboratorio de patología clínica, 2017).

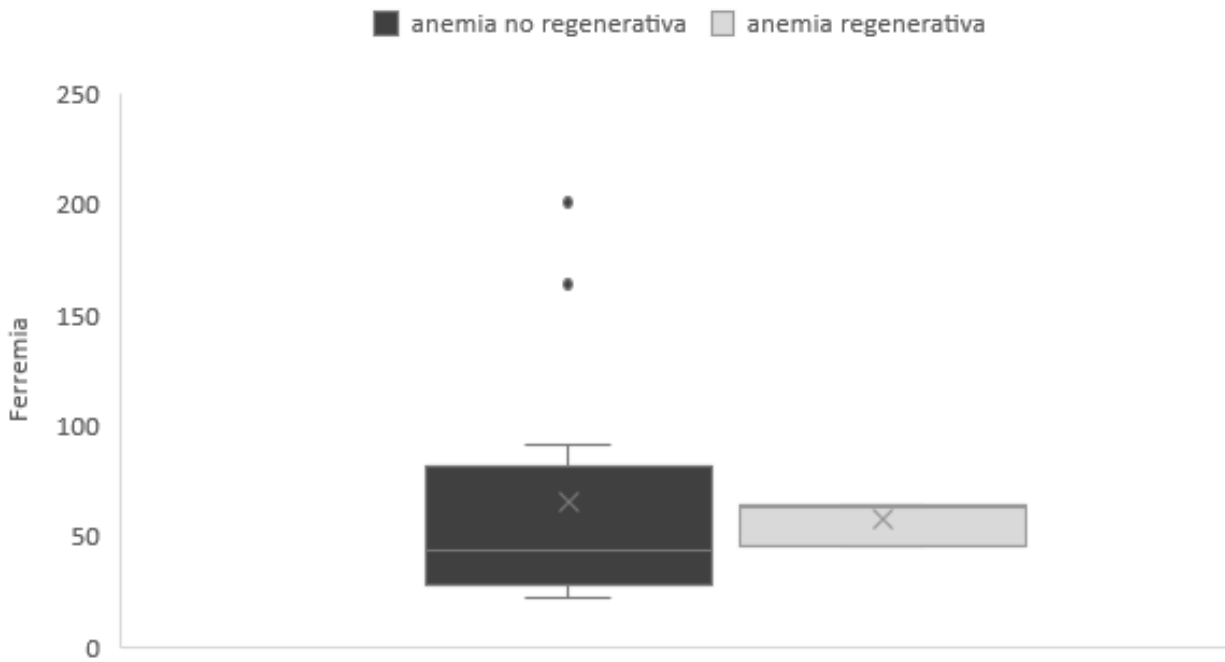


Fuente: Elaboración propia.

Se compara los niveles de hierro entre grupos de gatos con anemia regenerativa y no regenerativa ver figura 2, encontrándose sin diferencias significativas $p > 0.05$

En la figura 2 se puede observar la representación gráfica de la prueba U de Mann Whitney para muestras no paramétricas, en la cual se comparan los parámetros de hierro sérico de los 15 gatos. De los cuales Doce (12) presentan anemia no regenerativa y tres (3) presentan anemia regenerativa, esta prueba arrojó como resultado $p = 0.3482$, por lo tanto, no hay diferencias significativas entre los niveles de hierro analizados para ambos grupos $p > 0.05$.

Figura 2. Se comparan los niveles de Fierro en felinos doméstico con anemia regenerativa y no regenerativa.



Fuente: elaboración propia

Se trabaja con un nivel de confianza del 95%. El análisis estadístico considera un alfa del 5%, donde los resultados del valor p calculados menores que alfa se consideran significativos ($p < 0.05$). Así se rechazó la hipótesis nula y se aceptó la hipótesis alterna.

6. DISCUSIÓN

El objetivo de este estudio es evaluar los niveles de fierro sérico en gatos adultos anémicos. El análisis de las muestras es llevado a cabo en el laboratorio clínico del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad San Sebastián, sede Concepción, en donde en forma rutinaria se aplican controles de calidad y está a cargo de un tecnólogo médico certificado que fue el encargado de realizar las pruebas, garantizando la confiabilidad de los resultados y siguiendo todos los protocolos acordados. Respecto a esta temática la bibliografía disponible al respecto es limitada, especialmente en Chile, donde no existen antecedentes específicos de un estudio similar a este. En la elaboración de este estudio se ha observado que este parámetro es poco solicitado en el laboratorio del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad San Sebastián sede Concepción.

Los resultados analizados estadísticamente son significativos por lo que se rechaza la hipótesis nula, la cual consiste en “No existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles séricos de fierro en las muestras analizadas provenientes de gatos adultos anémicos del HCV-USS y los rangos de referencia publicados en la literatura de consulta (Laboratorio de patología clínica, 2017)” si bien la cantidad de muestras es acotada nos da un índice de que realmente es importante evaluar los niveles de fierro sérico en los pacientes felinos domésticos anémicos.

En el presente estudio doce (12) de los felinos domésticos clasificados con anemia no regenerativa se registran con un 75% de ferropenia y de los tres (3) felinos domésticos que se clasifican con anemia regenerativa se registra un 33% de ferropenia. Por lo que la mayoría de los felinos domésticos ferropénicos son aquellos que cursan con anemias no regenerativa, esto es debido al cuadro inflamatorio e infeccioso que cursa cada paciente, pero sería interesante aumentar el número de individuos de este estudio sobre

todo aquellos con anemia regenerativa y de esta forma obtener conclusiones con una mayor certeza estadística, dada la importancia que tendría desde un punto de vista clínico.

El estudio no tuvo como objetivo analizar la etiología de las diversas causas de anemia encontradas. Sin embargo, se observa que una gran proporción (93.3%) de los gatos analizados en el estudio de frotis mostraron indicios de presencia de *Mycoplasma haemofelis*, pese a que, no se llevaron a cabo pruebas de PCR. Asimismo, un 33.3% de los gatos presentaban enfermedades virales como el virus de la leucemia felina (FeLV) y el virus de inmunodeficiencia felina (FIV), y en menor medida (26.6%), se identificaron casos de traumatismo agudo en los gatos del estudio. Hunt y Jugan (2021), indica que las anemias y las deficiencias de hierro están estrechamente relacionadas con la patología de los pacientes, incrementando la deficiencia de hierro, sin embargo, esto no es posible demostrarlo en el presente estudio.

Dentro de la población de estudio, se halla una muestra de uno de los pacientes felinos domésticos con anemia, que presenta un bajo nivel de hematocrito (8%), con un bajo índice reticulocitario (0.02%) y una elevada cantidad de ferremia en sangre (200µg/dL), este paciente se clasifica como un paciente con anemia de tipo no regenerativa, además de presentar antecedentes de VeLF positivo, esto se relaciona con la mielosupresión que produce el retrovirus, afectando a la serie eritroide ocasionando una deficiencia progresiva de estos, aun teniendo todos los requerimientos básicos para compensarlo (Hartmann y Levy, 2017; Jhons, 2017).

McCown y Specht (2011). Demuestran que los cuadros inflamatorios reducen la disponibilidad de hierro al desencadenar la cadena inflamatoria, lo que a su vez provoca la liberación de citoquinas, factor de necrosis tumoral alfa, interleucina 6 (IL-6) y interleucina 10 (IL10). La IL-6 estimula la liberación de hepcidina aumentando a nivel sanguíneo, esta proteína a su vez degrada la ferroportina, lo que inhibe la absorción de

fierro en el intestino. como resultado, el fierro disponible queda secuestrado en los macrófagos, inhibiendo la nueva formación de glóbulos rojos, en el caso de este estudio los niveles sistémicos inflamatorios e infecciosos de los pacientes felinos domésticos se encontraban elevados cursando con un cuadro de sepsis, No obstante, no se puede concluir si los niveles de fierro sérico están disminuidos debido a los cuadros inflamatorios e infecciosos que presentaban los pacientes, para determinarlo con certeza, se requiere llevar a cabo un estudio más exhaustivo.

Si bien los alimentos para mascotas están especialmente formulados para cubrir todos sus requerimientos básicos que una dieta adecuada debe aportar, sin embargo, la mayoría están formulados de acuerdo con las necesidades normales de un animal sano, esto podría sugerir que un animal que esté cursando por una patología podría no tener los nutrientes y minerales necesarios para mantener las reservas adecuadas. Respecto a la dieta podríamos sugerir que, dependiendo del tipo de alimento, las mascotas podrían no estar recibiendo la cantidad de fierro necesario para suplir las necesidades metabólicas que una anemia en estado regenerativo requiere (Winzelberg y Hohenhaus, 2019), por lo que sería interesante realizar un análisis al respecto para descartar o validar esta hipótesis.

Basado en la información otorgada por los propietarios a la anamnesis, se puede concluir que la mayoría de los gatos consumen alimentos comerciales concentrados. Hoy en día existen una gran variedad de marcas, de carácter comercial y clínico, de distintas calidades y precios, en donde los fabricantes garantizan que los nutrientes que aportan cumplen con los requerimientos básicos. Sin embargo, en Chile no está garantizado por la ley. Sería interesante analizar los parámetros de nutrientes que aportan los alimentos, en especial el aporte de fierro. Se entiende que por la extensiva variedad de marcas y tipos de alimentos que existen en el mercado esta tarea podría ser difícil.

El Servicio nacional del consumidor, (SERNAC, 2021) menciona en sus análisis de alimentos que, en Chile no se asegura que las mascotas estén recibiendo los nutrientes declarados por los fabricantes hablando específicamente de los macronutrientes, surge la pregunta sobre la verdadera disponibilidad de hierro en los alimentos comerciales para gatos. Considerando la información previa, esto podría plantear una nueva hipótesis de investigación, ya que no se puede descartar que los aportes nutricionales de hierro no sean adecuados.

Uno de los exámenes complementarios que ayudaría a complementar los hallazgos del presente estudio sería la medición de ferritina sérica, ya que la ferritina además de ser una proteína de fase aguda, esta actúa como reservas de hierro no funcional, lo que permite asociar los niveles de hierro sérico con distintos tipos de anemia que cursan con ferropenia como lo menciona Naigamwalla et al. (2012). A pesar de que la hepcidina es una proteína de gran importancia en el análisis de la biodisponibilidad de hierro, está no fue abordada en el estudio, ya que el objetivo principal del estudio es evaluar los niveles séricos de hierro en gatos adultos anémicos, para así determinar cuánto hierro sérico está disponible en el organismo para la síntesis de glóbulos rojos. Sin embargo, sería necesario incluir más parámetros para una evaluación más precisa de las cantidades de hierro disponibles en cada paciente.

Cabe destacar que el tamaño muestral de este estudio es acotado, lo que puede presentar limitaciones a la hora de establecer conclusiones definitivas. Al tener un tamaño reducido puede haber mayor variabilidad y se pueden presentar dificultades para comparar los hallazgos con una población más amplia. Por esto sería importante y dado la importancia desde un punto de vista clínico que podrían tener estos resultados, continuar con este estudio, ampliar el tamaño muestral, introducir el análisis de fichas clínicas y comprobar si estos resultados se mantienen.

7. CONCLUSIÓN

A la luz del presente estudio se logró evaluar los niveles de hierro sérico en muestras de sangre de gatos adultos anémicos, clasificando las anemias en regenerativas y no regenerativas. Una vez clasificadas se logró comparar los niveles de hierro sérico en los gatos anémicos vs los gatos sanos de la literatura, los cuales tuvieron una distribución anormal al análisis estadístico, demostrando significativamente que los valores de hierro sérico se encuentran disminuidos con respecto a los de la literatura, por lo tanto, la mayoría de las mascotas de la población muestreada de felinos domésticos anémicos presentó ferropenia. Por esta razón en el actual estudio se rechaza la hipótesis H0 “No existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles séricos de hierro en las muestras analizadas provenientes de gatos adultos anémicos del HCV-USS y los rangos de referencia publicados en la literatura de consulta (Laboratorio de patología clínica, 2017). Finalmente se puede concluir que es importante evaluar este parámetro de manera más habitual en pacientes felinos domésticos anémicos e incluir la medición de ferritina y hepcidina en un próximo proyecto, puesto que, nos ayudaría a tener un mejor diagnóstico y tratamiento, asimismo fiscalizar los alimentos comerciales y así tener una mejor ingesta de macronutrientes para los pacientes felinos domésticos.

8. REFERENCIAS

- Aceña Fabián y Gascón Pérez, M. (2001). Las alteraciones de la médula ósea en el perro y el gato, Clínica veterinaria de pequeños animales. *Revista oficial de AVEPA, Asociación Veterinaria Española de Especialistas en Pequeños Animales*, 21(3), 232-249, <https://ddd.uab.cat/pub/clivetpeqani/11307064v21n3/11307064v21n3p232.pdf>
- Aguiló J. (2001). Valores hematológicos, Clínica veterinaria de pequeños animales. *revista oficial de AVEPA, Asociación Veterinaria Española de Especialistas en Pequeños Animales*, 21(2), 75-85, <https://ddd.uab.cat/pub/clivetpeqani/11307064v21n2/11307064v21n2p75.pdf>
- Alcántara L., Bonilla-Cisneros C. y Luna F. (2015). Cultivos clonogénicos: historia y su uso actual como control de calidad pre-trasplante, *revista médica uv*, 15(1), 7, <https://www.medigraphic.com/pdfs/veracruzana/muv-2015/muv151a.pdf>
- Arauz, S. (2008). Metodología, práctica e interpretación de análisis clínicos veterinarios. La plata: FCV, Universidad Nacional de La Plata.
- Arauz, M., Scodellaro, C. y Pintos, M. (2020). Atlas de hematología veterinaria, Editorial de la universidad nacional de la plata, http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/101193/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Betting A., Schweighauser A. y Francey T. (2022). Diagnostic value of reticulocyte indices for the assessment of the iron status of cats with chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 36(2), 619-628. <https://doi.org/10.1111/jvim.16367>
- Bush, B. (1999). Eritrocitos (glóbulos rojos) B.M. Bush (ed.), *interpretación de los análisis de laboratorio para clínicos de pequeños animales* (1ª ed., pp. 91-92). Ediciones S.

- Case L. P., Daristotle L, Hayek M. G. y Raasch M. F. (2010). Minerales. En Case L. P., Daristotle L, Hayek M. G. y Raasch M. F., (eds.) *Canine and Feline Nutrition: A Resource for Companion Animal Professionals* (3ª ed., pp. 40-41). Maryland Heights, MO: Elsevier Mosby.
- Chu, J., Morales, S., y Eglinton, R. (2014). Determinación de los valores hematológicos, bioquímica sanguínea y microscopía en caninos con anemia hemolítica inmunomediada, *Científica* 11(2), 98-99, <https://revistas.cientifica.edu.pe/index.php/cientifica/article/view/189/213>
- Chuya J. (2022). *Determinación de valores de referencia de reticulocitos, granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos), monocitos y linfocitos en felinos (felis catus) aparentemente sanos en condiciones de altitud* [Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista, Universidad Politécnica Salesiana]. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/22162/1/UPS-CT009641.pdf>
- Day, M., Mackin, A. y Littlewood, J. (2012). Revisión de las técnicas de diagnóstico en hematología. En A. Torrance (ed.), *Manual de Hematología y Transfusión en pequeños animales* (pp. 3-4) Colección BSAVA Edición
- Escobar Espinosa, C. A., Blandón, A. K., Pinto Galindo, Y. y Muñoz Murcia, A. L. (2015). Manejo homeopático de paraplejia por trauma raquímedular en felinos. *Revista Facultad De Ciencias Agropecuarias -FAGROPEC*, 7(1), 21–25. <https://editorial.uniamazonia.edu.co/index.php/fagropec/article/view/321>
- Hartmann, K. (2011). Clinical aspects of feline immunodeficiency and feline leukemia virus infection. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 143(3-4), 190 – 201, <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2011.06.003>
- Hartmann K. (2012). Clinical aspects of feline retroviruses: a review. *Viruses*. Oct 31;4(11):2684-710. doi: 10.3390/v4112684.
- Hartmann, K., & Levy, J. K. (2017). Feline Leukemia Virus infection. In S.J. Ettinger, E.C. Feldman & E. Coté (eds.). *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (8 th ed.) (pp. 2442-2455). St. Louis, Missouri: Elsevier.

- Hunt A. y Jugan MC. (2021). Anemia, iron deficiency, and cobalamin deficiency in cats with chronic gastrointestinal disease. *J Vet Intern Med.* 35(1), 172-178. <https://doi.org/10.1111/jvim.15962>
- Johns, J. L. (2017). Immune-Mediated and Other Nonneoplastic White Blood Cell Disorders. In S.J. Ettinger, E.C. Feldman & E. Coté (eds.). *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (8th ed.) (pp. 2137-2150). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Keiner, M., Fuchs, J., Bauer, N. y Moritz, A. (2020). Evaluation of reticulocyte hemoglobin content (RETIC-HGB) for the diagnosis of iron-limited erythropoiesis in cats. *Veterinary Clinical Pathology*, 49(4), 557–566. <https://doi.org/10.1111/vcp.12925>
- Kohn, B., Weingart, C., Eckmann, V., Ottenjann, M. y Leibold, W. (2006). Primary Immune-Mediated Hemolytic Anemia in 19 Cats: Diagnosis, Therapy, and Outcome (1998-2004). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20(1), 159–166. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2006.tb02836.x>
- Kohn, B. (2015). Beyond the pale - Causes, investigation and management of anaemia. Comunicação apresentada no International Society of Feline Medicine, Congresso Europeu, Porto, Portugal
- Laboratorio de patología clínica (2017). *Intervalos de referencia. Cornell, College of Veterinary Medicine.* <https://www.vet.cornell.edu/animal-health-diagnostic-center/laboratories/clinical-pathology/reference-intervals/chemistry>
- Langston, C. E., Reine, N. J. y Kittrell, D. (2003). The use of erythropoietin. The Veterinary clinics of North America. Small animal practice, *Elsevier*, 33(6), 1245–1260. [https://doi.org/10.1016/s0195-5616\(03\)00101-3](https://doi.org/10.1016/s0195-5616(03)00101-3)
- McCown, J. L. y Specht, A. J. (2011). Iron Homeostasis and Disorders in Dogs and Cats: A Review. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 47(3), 151–160. <https://doi.org/10.5326/JAAHA-MS-5553>.

- Meder, A., Adagio, L. y Lattanzi, L. (2012). Eritrocitos. En A. R. Meder, L. M. Adagio, L. D. Lattanzi (Eds), *El Hemograma en pequeños animales* (pp. 27-28) EdUNLPam.
- Naigamwalla, D. Z., Webb, J. A. y Giger, U. (2012). Iron deficiency anemia. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 53(3), 250–256. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3280776/pdf/cvj_03_250.pdf
- Neel, J. A. (2013). Blood smear basics. *NC State college of Veterinary Medicine*. North Carolina, Raleigh.
- Ottenjann, M., Weingart, C., Arndt, G. y Kohn, B. (2006). Characterization of the Anemia of Inflammatory Disease in Cats With Abscesses, Pyothorax, or Fat Necrosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20(5), 1143-1150. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2006.tb00713.x>
- Paltrinieri S. Fossati M. y Menaballi V. (2018). Diagnostic performances of manual and automated reticulocyte parameters in anaemic cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 20(2), 122-127. <https://doi.org/10.1177/1098612X17699067>
- Pattullo, K. M., Kidney, B. A., Taylor, S. M. y Jackson, M. L. (2014). Reticulocytosis in nonanemic dogs: increasing prevalence and potential etiologies. *Veterinary Clinical Pathology*, 44(1), 26–36. <https://doi.org/10.1111/vcp.12215>
- Prins, M., van Leeuwen, M. W. y Teske, E. (2009). Stability and reproducibility of ADVIA 120-measured red blood cell and platelet parameters in dogs, cats, and horses, and the use of reticulocyte haemoglobin content (CH(R)) in the diagnosis of iron deficiency. *Tijdschrift voor diergeneeskunde*, 134(7), 272–278. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19431960/>
- Servicion nacional del consumidos [SERNAC] (2021). Diagnóstico de mercado alimentos secos para mascotas: perros y gatos: *Análisis de información nutricional y verificación de declaraciones nutricionales (empresas)*. https://www.sernac.cl/portal/619/articles-62906_archivo_01.pdf

- Servicion nacional del consumidos [SERNAC] (2021). Manejo de muestras de sangre entera, obtención y conservación de suero para el diagnóstico serológico. https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/D-PP-SA-VCE-011%20Manejo%20muestras_v01%2003%20agosto%202021.pdf
- Scodellaro, C., Pintos, M., Stornelli, M. y Arauz, M. (2006). Anemias regenerativas en caninos y felinos: revisión bibliográfica I parte, *Veterinaria Cuyana* 1 (1), 22-28. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/119133>
- Steinberg JD, Olver CS., (2005). Las anomalías hematológicas y bioquímicas que indican deficiencia de hierro se asocian con una disminución del contenido de hemoglobina de reticulocitos (CHr) y del volumen de reticulocitos (rMCV) en perros. *Veterinario Clin Pathol* ;34(1:23–7).
- Villiers, E. y Blackwood, L. (2005). BSAVA Manual of Canine and Feline clinical Pathology (2a ed., pp. 33-56). British Small Animal Veterinary Association
- Villers, E. y Blackwood, L. (2013) Manual de Diagnóstico de Laboratorio en pequeños animales. Colección BSAVA Edición.
- Willard Michael D, Tvedten H. y Turnwald GH. (1994) Small animal clinical diagnosis bay laboratory methods, 2nd Ed. Saunders Co
- Winzelberg Olson, S. y Hohenhaus, A. E. (2019). Feline non-regenerative anemia: Diagnostic and treatment recommendations. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 21(7). <https://doi.org/10.1177/1098612X19856>

9. ANEXOS

Anexo 1: Consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA UTILIZACIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE DE PACIENTES FELINOS RECEPCIONADAS EN LABORATORIO CLINICO HCV-USS

Título de tesis: “EVALUAR NIVELES SÉRICOS DE FIERRO EN GATOS ADULTOS CON ANEMIA”.

Alumna: Paola Alejandra Contreras Jara.

Profesor Patrocinante: Antonio Esteban Bizama Reyes.

Propietario: _____

Domicilio: _____

Paciente: _____ Especie: _____

Sexo: _____ Edad: _____

Quien suscribe expresa su conformidad y autoriza a **Paola Contreras**, alumna tesista de la universidad San Sebastián, sede Concepción y a quién ella solicite colaboración, para utilización de muestras de sangre extraídas del paciente felino atendido en el Hospital Clínico Veterinario y que cumpla con los criterios de inclusión y exclusión para su posterior análisis en laboratorio.

Propósito de la Memoria de Título:

Evaluar niveles séricos de hierro en muestras de sangre obtenidas de gatos anémicos adultos atendidos en el Hospital Clínico Veterinario de la Universidad San Sebastián (HCV-USS), sede Concepción.

Criterios de inclusión:

- Se incluirá toda muestra de sangre de paciente felino entre 1 a 8 años que presente anemia con un hematocrito inferior al 30%.
- Muestras de sangre de hembras felinas no preñadas ni en periodo de lactancia.

Criterios de exclusión:

- Se excluirá toda muestra de sangre de paciente felino que sea menor a 1 año y mayor a 8 años que presente hematocrito igual o superior al 30%.
- Muestras de sangre de hembras felinas preñadas o en periodo de lactancia.
- Aquellas muestras que presenten coágulos o cualquier otra condición que altere su análisis.
- Muestras de más de 24 horas sin refrigerar o congelar.

Se deja constancia que la obtención de la muestra no implica riesgos ni complicaciones para el paciente debido a que se utilizan muestras de sangre de rutina ya obtenidas para la realización de exámenes de sangre.

CERTIFICO CON MI FIRMA QUE HE LEÍDO Y COMPRENDIDO LA PRESENTE AUTORIZACIÓN

Nombre y firma Propietario

FECHA:

Anexo 2: Formulario de protocolo de cuidado y uso de animales por el CECUA



1. PROPÓSITOS Y JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

FUNDAMENTACIÓN CIUDADANO COMÚN: Señale de qué se trata el proyecto, indique el modelo animal y la relevancia principal. (250 palabras)

2: DISEÑO DEL ESTUDIO y JUSTIFICACIONES

Tipo de animal(es) (de laboratorio; granja; silvestre; compañía; Otro)	Especie(s)

2.1 JUSTIFICACIÓN DEL USO DE ANIMALES Y DE LA ESPECIE SELECCIONADA Justifique por qué requiere usar animales versus modelos alternativos y por qué requiere usar la(s) especie(s) en particular versus otras especies (máximo 250 palabras)



2.2 DESCRIPCIÓN DEL DISEÑO DEL ESTUDIO Describa los procedimientos del proyecto y su temporalidad, para cada grupo de animales. Identificar grupos controles y tratamientos en caso de que corresponda. Indique el n (n=número) de cada grupo y el n total por objetivo. Mencione las variables que serán cuantificadas y que serán objeto de análisis estadístico posterior. Incluir, en caso de que corresponda, zonas geográficas, poblaciones, número de réplicas, número máximo de individuos. Incluir además el método de captura.
